UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1954 — N° 253

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

INFLUENCE DES SUBSTANCES LIPIDIQUES ET DES TWEENS

Travail du Laboratoire de Chimie Biologique et Médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
(Professeur F. TAYEAU)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 8 Décembre 1954

PAR

Jean-Claude-Louis-Armand DUBOCS

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTÉ
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE TROPICALE

Né à Montesquiou-sur-l'Osse (Gers), le 8 Août 1928.

Examinateurs de la Thèse

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
PAUTRIZEL, professeur.....
MOUSTARDIER, maître de conférences agrégé *Juges*
NEUZIL, maître de conférences agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE

1954

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1954 — N° 253

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

INFLUENCE DES SUBSTANCES LIPIDIQUES ET DES TWEENS

Travail du Laboratoire de Chimie Biologique et Médicale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux
(Professeur F. TAYEAU)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 8 Décembre 1954

PAR

Jean-Claude-Louis-Armand DUBOCS

ÉLÈVE DE L'ÉCOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTÉ
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE TROPICALE

Né à Montesquiou-sur-l'Osse (Gers), le 8 Août 1928.

Examinateurs de la Thèse

MM. TAYEAU, professeur.....	*Président*
PAUTRIZEL, professeur.....	*Juges*
MOUSTARDIER, maître de conférences agrégé	
NEUZIL, maître de conférences agrégé	

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE

1954

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	CREYX, BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN, MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F.-J.TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER
Anatomie pathologique	LÉGER
Anatomie	RIGAUD
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE

	MM.
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER, QUILICHINI
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN, LENG-LÉVY, MORETTI, LAVIGNOLLE
Chirurgie générale	LAUMONIER, CHAVANNAZ, VILLAR, TINGAUD, DEPAULIS
Obstétrique	CHASTRUSSE, FAUGÈRE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER, PÉRY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Anatomie	CABANIÉ
Cryptogamie	LAUBIE

	MM.
Obstétricie sociale	MAHON
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER, VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR SUZANNE

Je dédie ce travail en souvenir de notre fraternel amour et de notre commun intérêt pour la Chimie biologique.

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MES CAMARADES DE L'ÉCOLE DE SANTÉ NAVALE

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE
DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX

A NOS PROFESSEURS ET AUX OFFICIERS
DE L'ÉCOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTÉ
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES

A NOS MAITRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL DE 1re CLASSE TABET

DIRECTEUR DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
SPÉCIALISTE DES HÔPITAUX MARITIMES
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR
COMMANDEUR DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
OFFICIER DU MÉRITE MARITIME

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF DE 1re CLASSE CONSTANS

SOUS-DIRECTEUR DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES
SPÉCIALISTE DES HÔPITAUX MARITIMES
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
CROIX DE GUERRE 1939-1945

A NOS JUGES

MONSIEUR LE DOCTEUR E. NEUZIL

MAÎTRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ DE BIOCHIMIE MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

MONSIEUR LE DOCTEUR G. MOUSTARDIER

MAÎTRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ DE BACTÉRIOLOGIE

MÉDECIN DES HÔPITAUX COLONIAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

MÉDAILLE DE LA RÉSISTANCE FRANÇAISE

MÉDAILLE COLONIALE

MÉDAILLE DES ÉPIDÉMIES

OFFICIER D'ACADÉMIE

CHEVALIER DU MÉRITE MARITIME

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PAUTRIZEL

DOCTEUR ÈS SCIENCES

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL DE SÉROLOGIE

EXPERT DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

CROIX DE GUERRE 1939-1945

OFFICIER D'ACADÉMIE

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER D'ACADÉMIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

INFLUENCE DES SUBSTANCES LIPIDIQUES ET DES TWEENS

AVANT-PROPOS

Marquée du sceau de la chimie, puisque Pasteur fut à l'origine un chimiste pur, la bactériologie, après avoir connu une ère spécifiquement biologique, s'est intégrée de plus en plus dans le domaine de la biochimie. Pendant longtemps elle ne fut en rapport avec la chimie que par quelques points : elle utilisait en particulier les fermentations pour distinguer certains germes; mais ce n'étaient là que constatations purement empiriques.

Le développement de la biochimie, une meilleure connaissance du métabolisme intermédiaire, allaient permettre de pénétrer davantage la vie des bactéries et d'expliquer des phénomènes jusqu'alors obscurs. On conçoit ainsi aisément que soit née une branche nouvelle de la bactériologie, la chimie bactérienne, *dont les horizons se sont peu à peu élargis, surtout depuis la découverte du mode d'action des antibiotiques, dont l'efficacité relève d'interférences d'ordre biochimique.*

Intéressé par la bactériologie, nous avons suivi les récentes étapes de cette évolution. Aussi, lorsque parvenu au terme de nos études médicales, nous avons songé à notre thèse inaugurale, nous nous sommes adressé à M. le Professeur Tayeau qui, depuis plusieurs années, travaille sur les questions d'immunochimie.

En collaboration avec MM. Dulong de Rosnay, Martin-Dupont et Mme Loste, M. Tayeau venait d'effectuer diverses recherches [74, 75] *à l'issue desquelles de nouveaux problèmes avaient été posés. Il nous proposa d'essayer de les résoudre et les expériences que nous avons effectuées dans ce but font l'objet du présent travail.*

L'activité « in vitro » de la streptomycine vis-à-vis des bacilles Gram positif, et du staphylocoque en particulier, se trouve considérablement ralentie en présence de sérum sanguin (Berkman, Housewright et Henri [6]*)* (*).

Ces auteurs montrent que, dans leurs conditions expérimentales, cette action du sérum est due aux protéines qu'il contient. Celles-ci formeraient avec la streptomycine des complexes protéines - streptomycine (**) *dont l'activité vis-à-vis du staphylocoque serait notablement inférieure à celle de la streptomycine pure.*

Quelle peut donc être la nature de ces complexes ? Sachant que la streptomycine présente des propriétés basiques et qu'elle forme avec les composés acides, comme les acides nucléiques, des complexes électrovalentiels, il était logique de penser que les protéines se conduisaient comme des acides, d'autant plus qu'au pH sanguin elles se trouvent ionisées négativement. L'existence de complexes entre la streptomycine et les protéines sériques a été effectivement démontrée (Tayeau et collaborateurs [75]*).*

Cependant une observation de ces auteurs [74] *appelle des considérations supplémentaires : le sérum sanguin, préalablement délipidé, exerce vis-à-vis de la streptomycine un effet inhibiteur nettement plus élevé que le sérum normal. Comment expliquer cette constatation ? Les fractions protéidiques délipidées présentant un pouvoir adsorbant très notablement plus élevé que les fractions normales*

(*) Linz et Lecocq [44] ont noté que les milieux de culture riches diminuaient l'activité de la streptomycine. Après diverses recherches, ces auteurs ne parviennent pas à expliquer leurs constatations.

(**) *In vivo*, une grande part de la streptomycine se trouve liée aux protéines [8].

[77], on pouvait penser que la surface des bactéries était plus aisément masquée par les « protéines privées de leurs lipides » et se trouvait ainsi protégée vis-à-vis de l'action de la streptomycine.

Cette interprétation s'est trouvée infirmée à la suite d'essais immunologiques montrant que les protéines ne s'adsorbaient pas à la surface des bactéries [47]. Deux autres interprétations semblaient plausibles.

Les protéines sériques, privées des lipides qu'elles adsorbent, offrent une surface adsorbante beaucoup plus étendue; elles fixent donc une plus grande quantité de streptomycine que les protéines « non délipidées » et exercent ainsi un effet inhibiteur plus grand vis-à-vis de l'antibiotique. S'il en est ainsi, il faut alors admettre que les protéines et la streptomycine forment, à côté des complexes électrovalentiels, des complexes d'adsorption; c'est l'une des hypothèses émises par Tayeau et ses collaborateurs [74].

Une autre explication peut être encore fournie : on peut penser que les lipides sériques exercent un effet défavorable sur la vie et la reproduction du staphylocoque, amenant ainsi une diminution de sa résistance aux antibiotiques. On conçoit dès lors qu'en présence de sérum entier (contenant des lipides), la bactérie, voyant sa résistance partiellement diminuée, puisse être inhibée par des doses de streptomycine moins élevées qu'en présence de sérum délipidé.

C'est pour savoir si cette dernière interprétation correspond à la réalité que nous avons étudié, dans ce travail, l'action des diverses substances lipidiques contenues dans le sérum sanguin sur la croissance du staphylocoque.

Nos recherches ont pu être menées à bien grâce aux conseils que nous avons reçus :

M. le Docteur Moustardier, Maître de conférences agrégé, nous a fait bénéficier de ses compétences bactériologiques dans le choix et la mise au point de notre technique de mesure de la croissance microbienne.

M. le Docteur Neuzil, Maître de conférences agrégé, nous a aidé dans la partie physicochimique de notre thèse, tout particulièrement dans la solubilisation aqueuse des fractions lipidiques. Il nous a fait profiter de sa propre expérience; sa profonde érudition scientifique a toujours été à notre disposition; c'est grâce à lui que toute une partie de notre travail a pu être menée à bien.

M. Marquevielle, Chargé de cours, nous a initié à la technique biochimique; il fut toujours présent pour nous donner, à point nommé, ses judicieux conseils et prendre part à nos difficultés.

Que tous veuillent bien trouver ici nos remerciements reconnaissants.

M. le Professeur Tayeau nous a accueilli dans son laboratoire, nous a inspiré le sujet de notre travail et a toujours réservé une large part de sa vie, si pleine d'activités, à nous conseiller, nous guider, nous éclairer. Pendant les deux années passées au laboratoire, grâce à lui, nous avons vraiment, et connu les joies que donne la recherche, et participé pleinement à la vie scientifique. En un mot, il a été le « Maître » que l'on regrette de quitter et dont on aimerait pouvoir se dire le « disciple ».

Nos recherches personnelles ne sauraient être interprétées sans la connaissance du métabolisme bactérien et de l'interférence des antibiotiques sur ce métabolisme. C'est la raison pour laquelle nous consacrons à ces sujets la première partie de notre travail.

PREMIÈRE PARTIE

QUELQUES DONNÉES DE PHYSIOLOGIE MICROBIENNE

CHAPITRE PREMIER

APERÇUS SUR LE MÉTABOLISME BACTÉRIEN

Comme nous l'avons rappelé dans notre avant-propos, les investigations bactériologiques, depuis leur origine, ont été constamment gouvernées par des préoccupations chimiques. On se souvient comment l'étude des variétés cristallographiques de l'acide tartrique avait orienté PASTEUR vers l'étude des micro-organismes capables de sélectionner dans un paratartrate racémique le stéréo-isomère convenable, susceptible de leur assurer une source de carbone organique. Dès 1855, il étudiait les deux alcools amyliques (l'un lévogyre, l'autre inactif) obtenus par fermentation [61], et surtout, en 1857, il publiait devant la Société des Sciences, d'Agriculture et des Arts de Lille [62] son fameux « Mémoire sur la fermentation appelée lactique » dans lequel on se plaît à retrouver aujourd'hui les assises de la bactériologie.

PASTEUR montrait que la fermentation n'était pas, comme le pensait BERZELIUS, un simple phénomène de catalyse de contact, produit par un catalyseur inerte : elle n'était possible que grâce à l'intervention d'une cellule vivante.

La fermentation est liée à l'intégrité cellulaire et ne provient ni de la décomposition de cellules mortes, ni de la putréfaction des substances azotées du milieu; les principes immédiats ainsi libérés ne jouent un rôle que par l'apport de matériaux nutritifs.

Les cellules qui assurent la fermentation lactique sont différentes de celles qui provoquent la fermentation alcoolique. Les notions de spécificité fermentaire et d'activité biochimique variable selon l'espèce considérée, sont établies.

Les fermentations apparaissent comme des phénomènes très complexes et, à côté de la production d'acide lactique, on note la synthèse en quantités moindre d'autres acides organiques, en particulier d'acide butyrique et d'acide succinique.

Dans les conditions naturelles, on observe souvent que les fermentations alcoolique et lactique sont intimement liées et que l'une prédomine selon les conditions du milieu ou les conditions expérimentales réalisées : la fermentation alcoolique en milieu acide, la fermentation lactique en milieu neutre (neutralisation de l'acide formé par la chaux).

Dès cette date, Pasteur avait ouvert la voie à l'antibiose en montrant que la multiplication de la levure pouvait être complètement inhibée par l'addition au milieu de jus d'oignon.

Comme le souligne Marjory Stephenson dans l'introduction d'un ouvrage consacré au métabolisme microbien [70], les conceptions de Pasteur étaient essentiellement physiologiques : la fermentation était un processus *chimique,* mais lié à une cellule. Les acquisitions biochimiques de l'époque étaient encore trop embryonnaires pour pouvoir adopter une position différente et les spéculations cependant audacieuses de Traube [79] ne rencontrèrent que peu d'échos : le chimiste allemand invoque l'existence de substances, de composition chimique définie, responsables des activités chimiques des organismes vivants, substances capables de s'intégrer dans les réactions chimiques sans subir elles-mêmes aucune modification; il nous est facile de reconnaître, dans les substances plus ou moins hypothétiques de Traube, les enzymes d'aujourd'hui.

Si Pasteur demeure le créateur du métabolisme microbien, ce n'est qu'après sa mort qu'est véritablement née l'*enzymologie microbienne*.

C'est en 1897 que Buchner [9] put démontrer qu'on pouvait réaliser la fermentation alcoolique du sucre avec un extrait cellulaire absolument débarrassé de toute cellule. Depuis cette date, les travaux se sont multipliés à l'extrême et il ne nous est pas possible d'en donner ici l'historique même abrégé. Nous indiquerons d'une manière succincte, dans les pages suivantes, quelques données très générales sur le métabolisme intermédiaire microbien, en donnant de nombreux exemples concernant le germe que nous avons employé dans la partie expérimentale de notre travail, le *staphylocoque*.

Nos connaissances sur le métabolisme des bactéries représentent à l'heure actuelle une somme considérable de documents en raison surtout :

1° De ce que les bactéries possèdent très souvent des possibilités de synthèse fort étendues : de nombreuses espèces se développent sur des milieux artificiels de composition très simple à partir desquels elles construisent des molécules organiques souvent très complexes (enzymes, cytochromes...) ; de plus, la vitesse de ces réactions synthétiques peut être extrêmement élevée : *Escherichia coli*, par exemple, inoculé dans un milieu riche (hydrolysat trypsique de caséine) peut se diviser toutes les dix ou quinze minutes.

2° Les biochimistes ont trouvé, avec les bactéries, des organismes vivants particulièrement commodes pour l'étude expérimentale. Leur multiplication facile, la possibilité d'opérer sur des colonies extrêmement nombreuses d'individus d'où toute individualité est exclue et qui fournissent directement des résultats statistiques, en font un outil de travail indispensable pour le biochimiste. Les progrès récents de la biochimie sont dus, tout au moins dans certains domaines, à l'utilisation systématique des bactéries.

Il est bien certain que, sans la sélectivité des bacilles lactiques, le groupe touffu des vitamines hydrosolubles du complexe B n'aurait pu être défriché en si peu de temps, et le médecin ne disposerait pas aujourd'hui des puissants agents thérapeutiques que constituent par exemple l'acide folique, l'acide folinique ou la vitamine B_{12}.

3° La découverte des antibiotiques a puissamment contribué à l'accroissement de nos connaissances sur le métabolisme bactérien. Les sulfamides nous ont fait comprendre l'activité vitaminique de l'acide *p.*-aminobenzoïque. Les recherches récentes sur le mécanisme d'action de la pénicilline et de la streptomycine nous ont amenés à réenvisager le métabolisme nucléique des microorganismes.

Il n'y a pas de différence essentielle entre les activités chimiques des bactéries et celles des organismes supérieurs, végétaux ou animaux. Le nombre des réactions de base est restreint et, avec Gale [27], nous pouvons admettre qu'il se limite aux réactions de :

1° Réduction;
2° Oxydation;
3° Hydrolyse;
4° Déshydratation;
5° Désamination (qui provient souvent d'une déshydrogénation préalable);
6° Décarboxylation;
7° Phosphorylation;
8° Déphosphorylation.

L'hydrogène, l'oxygène, l'eau, le gaz carbonique et l'acide phosphorique apparaissent donc comme les principaux « outils » métaboliques des microorganismes.

Il serait possible d'étudier le métabolisme bactérien en prenant pour fil conducteur ces réactions chimiques fondamentales. Nous verrions ainsi que les mêmes transporteurs fondamentaux et les mêmes enzymes occupent la même place que dans les organismes plus évolués. Gros et

Machebœuf [29], étudiant le métabolisme phosphoglucidique chez *Clostridium sporogenes,* ont montré que la bactérie fait intervenir dans le métabolisme des glucides des processus très voisins de ceux que mettent en œuvre les cellules de levure ou de muscle.

Il est plus commode cependant de garder les divisions traditionnelles de la biochimie dynamique et d'étudier successivement :

Le métabolisme hydrominéral,

Le métabolisme des composés non azotés,

Le métabolisme azoté,

après avoir prévenu le lecteur du caractère schématique de cette distinction, tous les processus des différents métabolismes étant étroitement liés et solidaires, en sorte qu'on n'est autorisé à parler, en réalité, que d'un « métabolisme intermédiaire unique ».

I. — MÉTABOLISME HYDROMINÉRAL

Les micro-organismes contiennent de nombreux éléments minéraux et le tableau I, emprunté à Damboviceanu et Barber [14], donne la composition des cendres de plusieurs germes cultivés à la surface de gélose peptonée. Nous savons que ces éléments minéraux sont indispensables à la vie cellulaire et les éléments suivants doivent, en principe, se retrouver dans tous les milieux de culture : Na, K, Mg, Fe, SO_4, PO_4, Cl.

Les besoins précis des microorganismes en oligo-éléments métalliques sont loin d'être parfaitement précisés. Ceci provient du fait que, d'habitude, les milieux de culture sont réalisés avec des mélanges minéraux assez grossiers ou avec des sels métalliques de qualité technique : le sel de fer, par exemple, amène avec lui les petites quantités de cuivre ou de zinc nécessaires à l'activité de certains systèmes enzymatiques. Le cobalt et le vanadium semblent également être des éléments indispensables.

TABLEAU I

COMPOSITIONS MINÉRALES DE DIFFÉRENTS MICRO-ORGANISMES
(en g p. 100 g de poids sec)

	K	Mg	Ca	Na	P	Fe
Escherichia coli.....	0,036	0,20	0,16	0,83	1,52	0,0175
Salmonella typhi.....	0,22	0,27	0,14	0,72	1,52	0,0075
Salmonella aertrycke (R)	0,065	0,35	0,19	0,79	1,82	0,01
Salmonella aertrycke (S)	0,022	0,12	0,184	0,74	1,65	0,005
Staphylococcus albus...	**0,62**	**0,20**	**0,136**	**0,41**	**1,68**	**0,0075**
Staphylococcus aureus..	**0,64**	**0,13**	**0,11**	**0,27**	**1,30**	**0,0105**
Bacillus anthracis (R)...	0,64	0,32	0,10	0,86	1,52	0,0066
Bacillus anthracis (S)...	0,28	0,28	0,03	0,82	1,38	0,0066
Vibrio cholerae (R).....	0,076	0,31	0,094	0,76	1,21	0,008
Vibrio cholerae (S).....	0,048	0,15	0,076	0,76	1,21	0,003

II. — MÉTABOLISME DES COMPOSÉS NON AZOTÉS

Les composés ternaires présents dans le milieu sont souvent utilisés par le germe comme source énergétique : grâce à des réactions d'oxydation, cette énergie est utilisée pour assurer la croissance et la reproduction du germe, c'est-à-dire pour permettre ses réactions d'autosynthèse.

De très nombreux substrats peuvent être ainsi attaqués et l'on trouvera, à ce sujet, dans l'ouvrage de STEPHENSON [70], plusieurs pages de tableaux empruntés à DEN DOREN DE JONG [17] ; cet auteur a étudié systématiquement l'utilisation par différents germes d'un grand nombre de composés organiques susceptibles de servir de seule source de carbone dans un milieu synthétique ; ce travail a été réalisé avec des espèces capables d'utiliser l'ammoniaque comme source unique d'azote *(Escherichia coli, Proteus vulgaris, Pseudomonas fluorescens, Mycobacterium phloei)*.

L'examen des résultats démontre que les glucides sont les composés les plus généralement utilisés; puis viennent les acides malique, citrique, succinique et lactique, que nous savons aujourd'hui être les pièces maîtresses des différents cycles métaboliques assurant le catabolisme énergétique des composés hydrocarbonés; enfin, moins communément métabolisés, les acides gras et, à un degré moindre, les alcools. La fermentation des oses et des composés chimiquement voisins a d'ailleurs depuis très longtemps été utilisée pour la diagnose des germes. Certains tests d'identification des bactéries communes figurent sur le tableau II emprunté à Gale [27].

Les réactions biochimiques du catabolisme glucidique sont complexes et ne peuvent être étudiées ici en détail. Rappelons seulement qu'après phosphorylation, le glucose est transformé, par les stades des hexoses-phosphates et des trioses-phosphates, en acide pyruvique; ce dernier composé est, à son tour, décarboxylé. Le mécanisme de la réaction de décarboxylation de l'acide pyruvique est partiellement élucidé aujourd'hui; il nécessite la présence d'A. T. P., de diphospho-pyridino-nucléotide, d'acide lipoïque, de coenzyme A et de vitamine B_1.

Trois vitamines au minimum, la thiamine, l'amide nicotinique et l'acide pantothénique apparaissent donc nécessaires pour que cette réaction de décarboxylation puisse s'effectuer dans des conditions convenables : l'amide nicotinique entre, en effet, dans la constitution de la codéhydrase (DPN) et l'acide pantothénique participe à la formation du coenzyme d'acétylation de Lipmann. *Staphylococcus aureus* exige la présence de thiamine dans le milieu de culture. On constate, en effet, que les staphylocoques cultivés sur un milieu carencé en aneurine métabolisent l'acide pyruvique à un taux nettement supérieur à celui des microorganismes témoins; l'addition au milieu de pyrophosphate de thiamine rétablit une décarboxylation normale [35, 36]. La possibilité d'une synthèse partielle

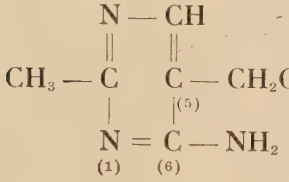
TABLEAU II

Test d'identification de quelques bactéries communes

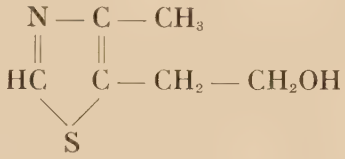
	Forme	Gram	Croissance		Spores	Pathogénicité	Indol	Test de Voges-Proskauer (*)	Glucose	Lactose	Saccharose	Dulcitol	Mannitol	Maltose	Salicine
			aérobie	anaérobie											
Streptococcus haemolyticus	Sphères en chaînettes	+	+	+	—	+	—	—	A	A	A	—	—	A	A
Staphylococcus aureus..	Sphères en grappes	+	+	+	—	+	—	—	A	A	A	—	A	A	—
Escherichia coli	Bâtonnets	+	+	+	—	—	+	—	AG	AG	—	AG	AG	AG	—
Aerobacter aerogenes ...	»	—	+	+	—	—	—	+	AG	AG	AG	—	AG	AG	—
Salmonella typhi	»	—	+	+	—	+	—	—	A	—	—	A	A	A	—
Proteus vulgaris	»	—	+	+	—	—	±	—	AG	—	±	—	—	+	—
Bacillus subtilis	»	+	+	—	+	—	—	+	A	—	A	—	—	A	A
Clostridium tetani	»	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Welchia perfringens	»	+	—	+	+	+	—	—	AG	AG	AG	—	—	AG	—

A = production d'acide;
AG = Production d'acide et de gaz.
(*) Pour la recherche de l'acétyl-méthyl-carbinol.

de la thiamine a pu être démontrée et *Staphylococcus aureus* peut aussi bien utiliser un mélange équimoléculaire des composés pyrimidique (I) et thiazolique (II) dont l'union forme la vitamine B_1 que la thiamine elle-même; dans le composé pyrimidique, le groupement méthylé du sommet 2 et le groupement aminé du sommet 6 sont indispensables, tandis que sur le sommet 5 les deux groupements $— CH_2NH_2$ ou $— CH_2OH$ sont équivalents.



(I)



(II)

Au contraire, la présence d'un groupement méthyl sur le sommet 5 inhibe toute activité enzymatique, ce qui indique bien que les deux cycles doivent être unis avant que l'organisme ne puisse utiliser la vitamine B_1. Le staphylocoque ne peut faire la synthèse de l'amide nicotinique, mais il est capable de l'incorporer dans l'édifice du coenzyme 1, tandis que, pour *Hemophilus parainfluenzae,* le même coenzyme est un facteur de croissance indispensable. *St. aureus* effectue, au contraire, la synthèse totale de l'acide pantothénique, opération que les streptocoques, microcoques pourtant assez voisins, sont incapables de réaliser. Nous avons réuni dans le tableau III quelques facteurs de croissance nécessaires aux germes les plus courants.

Les recherches récentes sur la nutrition des microorganismes ont détruit la barrière que l'on avait jadis artificiellement créée entre les germes autotrophes et les hétérotrophes, les premiers étant supposés être les seuls capables d'utiliser le gaz carbonique comme source de carbone. Grâce à Wood et Werkman, nous savons avec

TABLEAU III

Facteurs de croissance de quelques bactéries

	Sels	Ammoniaque	CO_2	Carbone organique	Trypto-phane	Acides aminés spécifiques	Acide nicotinique	Coenzyme I	Acide Pantothénique	B_6	B_1	Uracile	Riboflavine	Biotine	Hématine	Acide pimélique	Acide para-amino-benzoïque	Facteurs non encore identifiés
Nitrobacterium nitroso-monas	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Azotobacter	+	»	»	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Escherichia coli	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Proteus vulgaris	+	+	+	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Proteus morganii	+	+	+	+	−	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Salmonella typhi	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Hemophilus influenzae	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
Clostridium acetobutylicum	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	+	−
Corynebacterium diphteriae	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−
Clostridium sporogenes	+	+	»	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−
Streptococcus pyogenes	+	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Lactobacillus casei	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	+

certitude aujourd'hui que la fixation de l'anhydride carbonique est un processus biochimique extrêmement répandu et que, bien souvent même, une concentration suffisante en gaz carbonique est nécessaire pour observer une croissance normale. Sur des milieux artificiellement privés de CO_2, *Escherichia coli* ou *Salmonella typhosa* ne peuvent se développer [27] ; dans les mêmes conditions, la croissance de *Staphylococcus aureus* est nettement retardée, jusqu'à ce que, selon toute vraisemblance, les activités métaboliques de l'inoculum aient amené la teneur du milieu en CO_2 au delà d'un minimum seuil.

Les composés glucidiques sont également à la base des processus d'anabolisme et de formation de réserves. Les polyholosides qui constituent les réserves énergétiques des bactéries sont encore très mal connus, mais l'existence de composés glucidiques hautement polymérisés a été démontrée dans plusieurs cas; rappelons l'existence de « dextranes » ou de « levanes », composés qui forment en majeure partie le gel hydrophile que l'on rencontre dans les cultures de *Leuconostoc dextranicus* ou de *Bacillus subtilis*, et qui ont donné lieu à d'intéressantes applications thérapeutiques comme substituts du plasma sanguin. Signalons encore les celluloses bactériennes produites par *Acetobacter xylinum* et, surtout, les polyholosides qui confèrent

TABLEAU IV

	Extraits lipoïdiques recueillis sur		
	Bouillon	Bouillon + 0,5 p. 100 de glucose	Bouillon + 3 p. 100 de glycérol
Escherichia coli	9,59	9,09	19,9
Staphylococcus albus ...	**7,97**	**7,06**	**39,9**
Bacillus megatherium ..	9,15	18,1	33,8
Bacillus mucosus	13,9	8,82	15,42

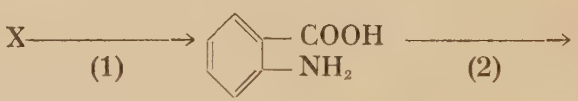
aux divers types de *Pneumococcus* leur spécificité antigénique.

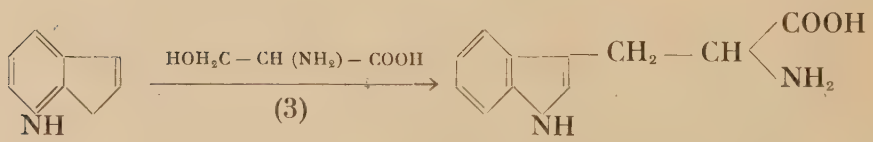
Les processus anaboliques conduisent enfin parfois à la synthèse de composés lipidiques, surtout lorsque le milieu contient du glycérol (*cf.* tableau IV [40]).

III. — MÉTABOLISME AZOTÉ

Tandis que de nombreux germes sont capables d'effectuer la synthèse des aminoacides qui doivent participer aux réactions énergétiques ou être anabolisés à l'intérieur des protéines de structure ou des systèmes enzymatiques, *Staphylococcus aureus* ne manifeste que des capacités d'élaboration très limitées. Ceci a été particulièrement bien démontré en ce qui concerne le tryptophanne, que le staphylocoque doit trouver en quantité suffisante dans le milieu de culture.

La figure ci-dessous montre la manière dont s'effectue la synthèse de cet aminoacide chez de nombreuses bactéries, comme par exemple *Escherichia coli*, à partir d'un précurseur non encore précisé; une première étape conduit à l'acide anthranilique, qui se transforme en indole (réaction 2); une troisième réaction condense l'indole et la sérine pour former le tryptophanne.





Certains mutants de *Neurospora crassa* s'avèrent incapables d'une synthèse totale, mais fabriquent le tryptophanne à partir de l'acide anthranilique; *Salmonella typhi* ne pos-

sède que les enzymes nécessaires à la réaction 3 et peut donc transformer l'indole en indolylalanine.

Les faibles possibilités de synthèse du staphylocoque en ce qui concerne les aminoacides se retrouvent lorsqu'on étudie son équipement de catabolisme protidique. Les décarboxylases des microcoques sont bien moins actives que celles des germes Gram négatif; cependant, le tableau V montre que l'activité transaminasique des suspensions de staphylocoques est du même ordre que celle des autres germes [42].

TABLEAU V

Germes	Activité (QTN (*))
Escherichia coli	840
Shigella dysenteriae	695
Salmonella typhi	1.135
Proteus vulgaris	1.610
Pseudomonas aeruginosa	800
Aerobacter aerogenes	1.517
Staphylococcus aureus	**910**
Staphylococcus albus	**950**
Welchia perfringens	1.170
Streptococcus haemolyticus	865
Streptococcus viridans	900
Pneumococcus type I	845

(*) QTN : $\frac{\mu g \text{ d'acide aspartique}}{\text{mg d'azote cellulaire}}$ formé par heure à partir du système acide glutamique + acide aspartique.

L'action lysante du staphylocoque sur la gélatine est connue depuis longtemps. Dès 1916, Otsuka [60] montrait que l'hydrolyse de la gélatine ou du sérum coagulé s'effectuait aussi bien par les filtrats de microbes tués au toluène que par les corps microbiens eux-mêmes, tandis que l'attaque des dipeptides comme la glycyl-l-tyrosine ou le glycyl-l-tryptophanne n'était réalisée que par les microorganismes entiers. La protéolyse ne s'exerce toutefois pas

lorsqu'on met le germe en présence de protéines purifiées [2]; on peut donc se demander s'il s'agit d'un processus nutritionnel normal; il est vraisemblable que, dans les peptones utilisées pour la réalisation des milieux de culture, seuls les aminoacides libres et les petits peptides sont métabolisés. Il est à remarquer que les bactéries Gram positif, comme le staphylocoque et le streptocoque, sont capables de concentrer à l'intérieur des corps microbiens un certain nombre d'acides aminés, avant qu'ils soient métabolisés ou transformés en protéines. Les germes Gram négatif ne possèdent pas ce pouvoir et Gale [27] pense que cette propriété particulière des germes Gram positif représente une évolution en rapport avec la perte de la capacité de synthèse des aminoacides (*).

Un aspect particulièrement important du métabolisme bactérien est représenté par les réactions auxquelles prennent part les acides nucléiques et leurs constituants. Les bactéries sont, en effet, de tous les organismes, ceux qui possèdent la teneur la plus importante en acide nucléique, fait probablement en rapport avec leurs énormes possibilités de multiplication. Rappelons également que ces acides nucléiques bactériens représentent le substratum des mutations bactériennes et qu'on a pu réaliser des mutations provoquées à l'aide de certains acides nucléiques.

Le tableau VI (p. 21), emprunté à Vendrely [84], montre la répartition des acides nucléiques du staphylocoque, comparativement à d'autres germes.

Les travaux de Henry et Stacey [32] ont bien mis en évidence le rôle des acides nucléiques dans le caractère Gram positif du staphylocoque. En traitant ce germe par la ribonucléase ou par une solution de cholate de sodium à 2 p. 100 en présence d'oxygène, les corps microbiens perdent leur possibilité de fixer le complexe coloré et deviennent Gram négatif; les auteurs ont pu isoler de la

(*) Voir à ce sujet une revue générale de Gale, in *Adv. in Protein Chem.*, tome VIII.

solution aqueuse le sel de magnésium de l'acide ribonucléique, qui possède bien la propriété de fixer le colorant.

TABLEAU VI

POURCENTAGE (EN RAPPORT AVEC LE POIDS SEC), DES ACIDES NUCLÉIQUES DE DIFFÉRENTS MICRO-ORGANISMES

	Staphylococcus aureus	*Bacillus anthracis*	*Salmonella typhi*	*Salmonella aertrycke*	Levure de boulanger
Azote total.....	13,95	10,00	14,61	14,48	6,50
Protéine totale...	75,50	58,00	78,50	82,05	36,30
Acide nucléique — Total.....	11,57	4,35	12,84	8,40	4,26
Acide nucléique — A. D. R. N (*).	2,82	1,15	3,72	3,00	0,31
Acide nucléique — A. R. N (*)...	8,75	3,20	9,12	5,40	3,95
A. D. R. N / A. R. N	0,24	0,26	0,29	0,36	0,07

(*) A. D. R. N. : acide désoxyribonucléique.
A. R. N. : acide ribonucléique.

A côté des acides nucléiques, on peut isoler des cellules microbiennes de nombreux produits de dégradation des groupements prosthétiques, surtout après autolyse, comme l'a bien montré MESROBEANU [52] à qui nous empruntons les chiffres suivants qui concernent le staphylocoque.

TABLEAU VII

RÉPARTITION DE L'AZOTE PURIQUE CHEZ LE STAPHYLOCOQUE (POUR 100 PARTIES D'AZOTE PURIQUE TOTAL CHEZ LA BACTÉRIE VIVANTE)

	AVANT AUTOLYSE	APRÈS AUTOLYSE	DIFFÉRENCE
Purines libres.....	4,2	74,6	+ 70,4
Nucléosides	38,6	84,5	+ 45,9
Nucléotides	28,0	38,2	+ 10,2
Acide nucléique	929,2	781,5	— 147,7
TOTAL.....	1.000,0	978,8	— 21,1

Parmi ces nucléotides, une place particulière doit être réservée à l'acide adénosine triphosphorique, dont on connaît le rôle dans les réactions de transfert de phosphate et du métabolisme énergétique. On l'isole facilement, sous la forme de son sel de baryum, de la fraction hydrosoluble ou de l'extrait trichloracétique du staphylocoque [46].

La synthèse des constituants des acides nucléiques est, en général, facilement réalisée par les microorganismes : différents composés puriques, comme l'adénine, la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine, stimulent très favorablement la croissance des bactéries lactiques [68]. *Staphylococcus aureus,* en milieu aérobie, peut synthétiser l'uracile; il n'en est plus de même dans les conditions anaérobies, où le composé pyrimidique devient un facteur indispensable [65] et ne peut être remplacé même par des composés très voisins.

Ces quelques notions vont nous permettre de mieux comprendre maintenant l'action des antibiotiques sur les microorganismes, plus particulièrement sur le staphylocoque.

CHAPITRE II

MODE D'ACTION DE QUELQUES ANTIBIOTIQUES SUR LES BACTÉRIES ET LE STAPHYLOCOQUE EN PARTICULIER

Les premiers antibiotiques, les sulfamides, ont conduit à cette notion qui devait devenir si fructueuse dans le domaine de la chimiothérapie : une substance antibiotique manifeste son action inhibitrice vis-à-vis d'un germe en perturbant certaines réactions de son métabolisme propre. Les sulfamides, depuis les travaux désormais classiques de Woods et Fildes [90], peuvent être considérés comme des « antivitamines », leur analogie structurale leur permettant de prendre la place, à l'intérieur de complexes biologiques, d'un facteur de croissance microbienne très important, l'acide *p.*-aminobenzoïque.

Citons, à ce sujet, quelques substances antivitaminiques plus particulières au staphylocoque.

Gale [27] a noté ainsi l'action du radical $R — CH (NH_2) — SO_3H$ venant prendre la place d'acides aminés indispensables et bloquant la croissance microbienne.

Woolley et White [88, 89] ont montré l'effet de l'adjonction au milieu de culture de la pyrithiamine. Celle-ci, homologue pyridinique de la thiamine, la remplace et gêne ainsi la multiplication du germe.

Nous venons de voir qu'en milieu anaérobie le staphylocoque ne peut synthétiser l'uracile. La présence d'acide

barbiturique, de formule voisine, peut par le même processus provoquer un arrêt de croissance.

Tous ces cas particuliers ne sont qu'une application au métabolisme du staphylocoque du mécanisme général d'action des substances antivitaminiques.

Après de nombreuses années de recherche et éclairé par les travaux de Machebœuf et Gros [49], nous pouvons maintenant comprendre le mode d'action de certains antibiotiques. Ceux-ci, a dit Machebœuf [49], « ne sont après tout que des effecteurs de réactions biochimiques. Leur mode d'action est très comparable en somme à celui de substances chimiques antibactériennes très banales et la frontière s'estompe entre les drogues artificielles telles que les sulfamides ou les acridines d'une part, et les antibiotiques naturels. »

La pénicilline intervient dans le catabolisme ribonucléique au stade des nucléosides. Elle semble agir soit sur la liaison base-ribose, soit sur un système enzymatique (mononucléosidase) intervenant dans la formation des nucléosides.

D'autres travaux avaient attiré plus spécialement l'attention sur le métabolisme protidique, et tout particulièrement sur :

— La réaction de Stickland chez les anaérobies (*),

— La captation de l'acide glutamique par les micro-organismes.

Mais, à la suite des travaux récents, il semble que ces faits intéressants — et que nous allons retrouver en étudiant l'action de la streptomycine — ne soient que secondaires à l'attaque principale située au niveau des acides nucléiques. Le métabolisme protidique, en effet, nécessiterait la

---

(*) Réaction capitale pour les anaérobies strictes, consistant en une désamination indirecte où interviennent deux aminoacides; l'un cède de l'hydrogène à l'autre, et la réaction finale libère de l'ammoniaque. Cette réaction peut être comparée à la respiration aérobie : au lieu de l'oxygène, c'est un aminoacide qui est finalement l'accepteur d'hydrogène.

présence de composés nucléosiques ou de l'énergie que dégage leur catabolisme.

Par quel mécanisme la streptomycine vient-elle donc interférer dans le métabolisme microbien ?

A la suite d'un travail de Cavallito [10], ayant montré que la streptomycine réagit sur les substances portant un groupe sulfhydryle, on admet que cet antibiotique intervient en se combinant aux groupements — SH des protéines bactériennes; or ces groupements -SH jouent un rôle essentiel dans le métabolisme protidique, nécessaire à la vie du germe.

Par ailleurs, Waksman [85] note de son côté que les glucides inhibent partiellement l'activité de la streptomycine; il conclut alors que la streptomycine intervient en perturbant le métabolisme de la bactérie. Waksman devait par la suite rattacher simplement cette action à une modification de *p*H (due à la formation d'acide lactique).

Enfin, Cohen [11] montre que la streptomycine forme des complexes *in vitro* avec les acides nucléiques. A la suite de cette remarque, d'importantes recherches sont abordées par Machebœuf et ses collaborateurs. Ces auteurs portent leur attention sur les divers métabolismes d'une bactérie sensible à la streptomycine, *Clostridium sporogenes;* ils étudient l'effet exercé par cet antibiotique sur chaque chaînon métabolique et ils concluent de leur étude que la streptomycine intervient seulement sur le métabolisme nucléique (*). Ils démontrent que, chez cette bactérie, le métabolisme nucléique consiste en une dépolymérisation des acides nucléiques sous l'influence d'une *ribonucléodépolymérase,* suivie d'une décomposition des mononucléotides formés grâce à la *mononucléase.* Ils prouvent ensuite que la streptomycine se comporte comme le feraient une antiribonucléodépolymérase et une antimononucléase.

(*) Cependant, notons que W. W. Umbreit [80] a signalé que la streptomycine inhibe une réaction entre l'oxalacétate et le pyruvate, démontrant ainsi son intervention dans le métabolisme des composés ternaires,

En raison de son action inhibitrice sur la dégradation des acides nucléiques, la streptomycine empêche la formation d'acide adénylique, qui est nécessaire à une réaction essentielle du métabolisme des bactéries anaérobies, la réaction de Stickland (*cf.* p. 24).

Il semble que le point de départ de cette action réside en la formation de complexes entre l'antibiotique et les acides nucléiques des bactéries [7]; d'ailleurs, l'addition au milieu de toute substance susceptible, soit de concurrencer les acides nucléiques microbiens [66], soit de dissocier les complexes streptomycine - acides nucléiques (cas des sels [21]), amène un ralentissement ou même une inhibition de l'effet antibiotique (Gros et Machebœuf [28]). La combinaison s'effectue entre l'un des groupes acide de l'acide nucléique et les groupes guanidyle de la streptomycine [30, 51].

Les protéines sériques, grâce à leurs groupements électronégatifs, interviennent donc en concurrençant les acides nucléiques bactériens et en réduisant ainsi la réactivité de la streptomycine vis-à-vis de ces derniers.

La délipidation des fractions sériques ne fait pas apparaître de nouveaux groupements électronégatifs [73] : une protéine sérique privée des lipides qu'elle fixe habituellement devrait donc exercer toujours le même pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'activité de la streptomycine. Or, nous l'avons signalé au début, les lipides une fois enlevés, le pouvoir inhibiteur de la fraction vis-à-vis de la streptomycine se trouvait considérablement augmenté.

Cette constatation a conduit à envisager les deux hypothèses précédemment exposées, dont l'une — l'effet défavorable des graisses sur le staphylocoque — constitue le point de départ de nos recherches.

CHAPITRE III

ACTION DES ACIDES GRAS SUR LES BACTÉRIES

On trouve dans la littérature un grand nombre de publications consacrées à l'influence des acides gras et, d'une manière plus générale, à l'influence des composés lipidiques sur les micro-organismes. Les résultats obtenus par différents auteurs apparaissent souvent contradictoires, les uns signalant une inhibition de la croissance microbienne pouvant aller jusqu'à l'action bactéricide ou la lyse, d'autres, au contraire, prétendant que les substances lipidiques se comportent comme des substances favorisantes. Cette opposition n'est qu'apparente et, comme nous allons le voir, des travaux récents ont permis de dissocier les deux influences et de préciser les conditions expérimentales dans lesquelles on pouvait observer l'une ou l'autre.

I. — ACTION ANTISEPTIQUE DES ACIDES GRAS.

C'est à Robert Koch que revient le mérite d'avoir mis en évidence, dès 1881 [37], les propriétés germicides des solutions aqueuses de savons, ouvrant ainsi un vaste domaine d'application pratique aux sels alcalins des acides gras en hygiène individuelle et collective. Les expériences furent reprises en 1907 par Noguchi [59] qui signala en outre la grande sensibilité du B. K. à l'action de ces corps. L'année suivante, Reichenbach [64], utilisant comme germe

test *Escherichia coli*, remarque que les savons sont d'autant plus germicides qu'ils sont en milieu plus alcalin; ces constatations sont confirmées par Lamar [39], puis par Nichols [58] : ce dernier note que les savons usuels, notamment les stéarates et les palmitates, sont précipités et perdent de ce fait leur action biologique quand on amène le *p*H du milieu à la valeur de 7, et plus encore en milieu plus acide. Avery [1], en essayant d'isoler *Hemophilus influenzae*, put supprimer la pousse des pneumocoques et des streptocoques en ajoutant de l'oléate de sodium au milieu de culture.

La première étude systématique n'est apparue seulement qu'en 1926 avec le travail d'Eggerth [25]; l'influence de la longueur de la chaîne carbonée, avec les acides butyrique, caproïque, caprylique, caprique, undécylique, laurique, tridécylique, myristique, pentadécylique, palmitique, stéarique, oléique et ricinoléique, l'influence d'une gamme de *p*H allant de 5,0 à 10,0 ont été examinées sur *Streptococcus pyogenes, Corynebacterium diphteriae, Staphylococcus aureus, Salmonella typhi* et *Vibrio cholerae*. Eggerth put ainsi observer que les savons à chaîne courte se montraient actifs en milieu acide, tandis qu'au contraire les termes supérieurs n'étaient vraiment germicides qu'en milieu alcalin. Le point de transition était variable selon la nature du micro-organisme examiné.

L'interprétation donnée par Eggerth ne nous semble pas aujourd'hui reposer sur des bases physico-chimiques solides. Mais ses résultats expérimentaux nous paraissent valables et ont d'ailleurs été partiellement confirmés plus tard par Valette et Liber [81] : étudiant en milieu tamponné l'action du laurate, du linoléate et du ricinoléate sur le staphylocoque cultivé sur bouillon T, ces chercheurs constatent que l'action antibiotique s'avère plus prononcée en milieu acide; or l'acide laurique ne possède qu'une chaîne de douze carbones; les acides linoléique et ricinoléique ont une chaîne en C_{18}, mais l'existence d'autres

fonctions chimiques sur la chaîne polyméthylénique (liaison éthénique, fonction alcool) modifie leur longueur réelle.

La pratique des dosages microbiologiques de vitamines devait bientôt amener des constatations nouvelles : Kodicek et Worden [38] signalent que *Lactobacillus helveticus*, dont ils se servent pour évaluer la riboflavine, était inhibé vingt-quatre heures par de l'acide oléique et soixante-douze heures ou plus par les acides linoléique et linolénique, lorsqu'ils se trouvaient présents dans le milieu de culture à la concentration de 16 $\mu g/cm^3$.

Dervichian et Mousset [20] ont repris récemment l'étude détaillée de l'effet du *p*H dans l'action des acides gras sur la croissance microbienne; dans le cas particulier de l'action du laurate de potassium sur *E. coli*, en milieu synthétique, ils constatent que jusqu'aux environs de *p*H 7,5, l'action inhibitrice du laurate ne s'observe que si le milieu est saturé en acide laurique : la courbe qui sépare la région où se manifeste l'inhibition partielle de celle où la croissance est normale, est en effet confondue avec la courbe de solubilité de l'acide laurique. Au delà de *p*H 7,5, on observe, pour une concentration suffisante en acides gras, une inhibition totale de la croissance et, pour des valeurs relativement élevées de *p*H (*p*H supérieur à 8), l'action bactériostatique se produit même pour des concentrations en acide laurique inférieures à la saturation; comparant leurs propres résultats avec ceux obtenus par Eggerth concernant l'action de l'acide laurique sur une bactérie Gram positif, *Staphylococcus aureus*, et un germe Gram négatif, *S. typhi*, Dervichian et Mousset estiment que tout se passerait comme s'il y avait deux modes d'inter-action entre l'acide gras et les micro-organismes, suivant que l'on se trouve au-dessous ou au-dessus de la valeur de *p*H 7,5; l'une ou l'autre de ces actions serait fatale suivant que le micro-organisme est Gram positif ou négatif.

Il nous paraît possible d'interpréter d'une manière un peu différente les résultats obtenus par Eggerth, à la lumière de conceptions qui ont fait l'objet d'un important exposé de Dervichian [18]. Nous ne sommes pas encore parfaitement fixés sur le mécanisme de l'action bactériologique ou bactéricide des « substances superficiellement actives », mais il est très vraisemblable qu'elle correspond à la formation d'associations moléculaires entre l'agent actif et certains constituants du micro-organisme, peut-être situés à la périphérie du corps microbien dont il contribuent à former la « membrane » extérieure. Ces associations ne s'avèrent possibles [19] que s'il existe une certaine correspondance de structure entre la molécule active et la molécule présente dans l'organisme, ainsi que certaines conditions de « balance hydrophile-lipophile » [83]. Un acide gras à longue chaîne est pratiquement insoluble dans l'eau à un *p*H voisin de la neutralité; sa solubilité ne prend une valeur suffisante qu'en milieu alcalin : dans ces conditions, il peut alors aller au contact de la cellule microbienne et réaliser l'association moléculaire dont l'existence va conditionner l'arrêt de croissance. Un acide gras à courte chaîne est, au contraire, très soluble en milieu alcalin et sa balance hydrophile-lipophile, penchant trop nettement en faveur de l'hydrophilie, ne donne pas à l'association moléculaire une cohésion suffisante, plus exactement, les forces d'affinité pour le solvant aqueux étant considérables, il n'existe pas de cohésion possible avec les constituants protoplasmiques convenables. Quand on amène le *p*H à des valeurs plus basses, l'affinité pour le solvant diminue (baisse de la solubilité), tandis que les forces de cohésion augmentent; à partir d'une certaine valeur du *p*H, l'association moléculaire peut se réaliser et l'on observe la bactériostase.

L'action bactériostatique des acides gras ne semble pas liée à leur constitution chimique, mais bien à leur structure de molécule amphipathique, c'est-à-dire de molécule

possédant à la fois un groupement hydrophile et un groupement hydrophobe. On connaît à l'heure actuelle une très large gamme de « substances superficiellement actives » réalisées par voie synthétique et qui manifestent souvent une forte action bactéricide : c'est le cas en particulier pour les sels d'ammonium quaternaire à chaîne grasse (*).

L'activité bactériostatique de plusieurs extraits naturels a été récemment identifiée à des acides gras : signalons par exemple le travail de Humfeld [33] qui décrit les propriétés inhibitrices vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, de *Micrococcus conglomeratus* et de *Streptococcus faecalis* d'un extrait de son de blé, dont l'élément actif serait un acide gras; notons que dans les conditions expérimentales réalisées, ni l'acide gras, ni l'extrait de son, ne se montrent efficaces contre *E. coli*. Faisons également une place pour le travail de Mac Kee et collaborateurs [50], qui réussirent à extraire de *Tetrahymena gelii* un mélange d'acides gras qui inhibent la pousse des Mycobactéries; ces acides gras ont une chaîne de longueur moyenne C_{22}-C_{24} et correspondent à un mélange en quantité égale d'acides gras saturés et d'acides éthéniques Les préparations purifiées obtenues sont actives sur les pneumocoques, les streptocoques et les staphylocoques, mais se montrent sans action sur les germes Gram négatifs.

Nous avons signalé plus haut la sensibilité du B. K. aux acides gras, décrite pour la première fois par Noguchi. Ces expériences furent développées en 1932 par Stanley et collaborateurs [69] qui, étudiant une série importante d'acides organiques de synthèse sur les germes acido-résistants, montrèrent que les acides gras aliphatiques contenant de 15 à 18 carbones étaient les plus actifs.

Loebel, Shorr et Richardson [45], en montrant qu'à de faibles concentrations les acides gras augmentent la consommation d'oxygène du B. K., allaient ouvrir le cha-

(*) Voir à ce sujet [82, 41, 63].

pitre longtemps contesté du rôle des acides gras comme facteurs de croissance des bactéries.

II. — LES ACIDES GRAS FACTEURS DE CROISSANCE.

Les expériences de Lœbel furent bientôt confirmées par Cutinilli [13], tandis qu'une autre équipe, sous la direction de Bergström [5], trouvait que la présence d'acides gras dans le milieu de culture pouvait inhiber complètement la respiration de *Mycobacterium tuberculosis* à des dilutions de 1/10.000 pour l'acide oléique, de 1/15.000 pour l'acide linoléique et de 1/30.000 pour l'acide linolénique.

Ces contradictions apparentes furent complètement élucidées à la suite des travaux effectués à partir de 1946 par R. Dubos à l'Institut Rockefeller. Dubos [22] put observer également un net effet bactériostatique des acides gras sur le bacille tuberculeux, particulièrement prononcé pour les acides désaturés; mais cet effet inhibiteur pouvait être complètement aboli si l'acide gras était introduit sous forme d'ester dans le milieu, ou si l'on prenait soin d'ajouter au milieu une quantité suffisante de protéine et, plus particulièrement, de sérum albumine sous forme de la fraction V de Cohn. D'autres protéines, comme la gélatine, l'édestine, la lacto-globuline, l'ovalbumine ou la caséine sont au contraire totalement inefficaces. Dans ces conditions, à l'état d'ester ou de complexe protéidique, l'acide gras manifestait au contraire une action favorisante très appréciable sur les cultures et se comportait comme un véritable « facteur de croissance ».

Ces constatations nous permettent de comprendre pourquoi le bacille tuberculeux se développe avec tant de facilité dans le milieu de Dubos au tween 80 - sérum albumine [24]. Le tween 80, sur lequel nous aurons l'occasion de revenir bientôt plus longuement, est un ester oléique d'anhydride de sorbitol rendu hydrosoluble par condensation de l'oxyde d'éthylène. Il se comporte comme une

source non toxique de facteur de croissance représenté par l'acide oléique. Les préparations fraîches de tween 80 à elles seules favorisent la pousse microbienne, mais en vieillissant à la température du laboratoire, l'ester s'hydrolyse progressivement en libérant de l'acide oléique en quantité telle que l'action inhibitrice de l'acide gras éthénique devient manifeste. La sérum albumine capte l'acide gras au fur et à mesure de sa libération [15].

Il faut d'ailleurs prendre soin, dans la réalisation du milieu de Dubos, de chauffer à 56° la fraction V utilisée ou de la remplacer par de la sérum albumine de bœuf cristallisée : on inhibe dans le premier cas l'activité lipasique de la fraction V, qui, s'attaquant au tween, pourrait en libérer des quantités trop importantes d'acides gras; les fractions cristallines, dans le deuxième cas, ne sont pratiquement pas contaminées de lipase; un troisième procédé consiste à introduire dans le milieu 0,01 p. 100 de fluorure de sodium, puissant inhibiteur de l'activité lipasique et substance non bactériostatique pour le bacille tuberculeux [16].

Dubos [23] a remarqué que des composés lipidiques naturels, comme la sphingomyéline, manifestaient également une action favorable sur la pousse du B. K. On connaît d'autres exemples dans lesquels des acides gras manifestent une action de facteur de croissance.

Neuzil et Fréour [55 bis] ont montré par ailleurs que le tween 80 manifeste une action favorisante très marquée sur la tuberculose expérimentale du Cobaye. Cet effet semble en rapport avec la libération d'acide oléique, car le tween 60, homologue stéarique du tween 80, s'avère au contraire sans action sur cette même affection bacillaire expérimentale.

Au cours de dosages microbiologiques de riboflavine et d'acide pantothénique, différents auteurs [3, 71] ont remarqué une stimulation de la pousse de l'organisme utilisé, *Lactobacillus casei*, lorsque les vitamines se trou-

vent dans le milieu à dose suboptimale; des concentrations plus élevées en acides gras, au contraire, sont nocives pour *Lactobacillus arabinosus* [67]. Dans les milieux de culture synthétiques, les besoins de *Lactobacillus casei* en biotine peuvent être annulés si le milieu contient de l'acide oléique [86], de l'huile de riz [86] ou une substance liposoluble non identifiée obtenue à partir du sang [78]. Enfin, Guirard, Snell et Williams [31] ont montré que l'acide oléique possédait, pour de nombreuses bactéries lactiques, la même influence favorisante sur la croissance que l'acétate.

Une étude plus approfondie de l'action favorisante de l'acide oléique sur les bactéries lactiques a été réalisée par Williams, Broquist et Snell [87]; ces auteurs ont montré que seuls les acides oléique et linoléique augmentaient la pousse des bactéries lactiques, les acides gras saturés à nombre pair de carbone de C_6 à C_{18} étant complètement inactifs; pour *Lactobacillus bulgaricus*, l'acide oléique, bien qu'indispensable, s'avère si toxique que son effet favorisant ne s'obtient que dans une étroite bande de *p*H et de concentration. L'addition de tween 40, substance tensio-active non ionisée, dépourvue par elle-même d'influence sur la croissance, « détoxique » l'acide oléique et élargit son champ d'action. Le tween 80, ester hydrosoluble de l'acide oléique, est une source excellente et atoxique d'acide oléique.

Avec d'autres variétés de bactéries lactiques, comme *Streptococcus faecalis, Lactobacillus arabinosus, casei, mesenteroides,* l'acide oléique n'est indispensable que sur les milieux privés de biotine; son action est alors renforcée par la présence concomitante de tween 40, le mélange de tween 40 et d'acide oléique pouvant être remplacé par le tween 80.

Remarquons que l'acide oléique apparaît également indispensable pour *Corynebacterium diphteriae* [12], pour *Clostridium tetani* et *Clostridium welchii* [26] ainsi que pour *Eresypelothrix rhusiopathiae* [34].

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

CHAPITRE PREMIER

RECHERCHE D'UNE TECHNIQUE D'ÉTUDE DE LA CROISSANCE MICROBIENNE

Il est extrêmement difficile d'appliquer aux observations de Tayeau et de ses collaborateurs [75] les résultats précédemment exposés concernant l'effet exercé par les acides gras sur les bactéries. En effet, les graisses contenues dans le sérum sanguin ne se trouvent pas à l'état libre; elles sont fixées aux protéines et forment avec ces dernières les cénapses lipidoprotéidiques (Machebœuf [48]); sous cette forme, les graisses se trouvent solubilisées dans l'eau et sont masquées à la plupart de leurs réactifs habituels. Si donc on veut étudier l'effet des diverses substances lipidiques sur le staphylocoque et pouvoir transposer les résultats obtenus aux observations de ces auteurs [75], il est indispensable de rendre « hydrosolubles » les graisses étudiées.

Ce problème, jadis impossible à résoudre, est réalisable aujourd'hui grâce à la préparation de substances superficiellement actives, désignées sous le nom de *tweens*. Encore faut-il que les tweens n'exercent aucune action par eux-mêmes sur le staphylocoque; c'est pour cette raison que le premier chapitre de notre étude expérimentale est consacré à l'action exercée par divers tweens sur la croissance de ce germe.

I. — MESURE DE LA MULTIPLICATION MICROBIENNE.

Dans nos tout premiers essais, nous avions pensé mesurer la croissance du staphylocoque en mettant en œuvre la technique classique, qui consiste à ensemencer de l'eau peptonée glucosée contenant de la phénolphtaléine avec un faible inoculum de staphylocoque (quelques gouttes d'une culture de vingt-quatre heures sur bouillon, fortement diluée) et noter le temps nécessaire au virage de l'indicateur. Si l'addition au milieu de la substance à étudier retarde le virage, on peut conclure qu'elle présente un effet défavorable sur la croissance; dans le cas contraire, on conclut à un effet activateur.

Cette technique offre une incontestable simplicité, mais elle présente l'inconvénient de ne pouvoir suivre graduellement l'évolution de la culture.

Pour cette raison, nous avons mis au point une technique photométrique dont le protocole expérimental, après de nombreux essais préliminaires, a été ainsi établi :

A. — Préparation de la culture microbienne

3 cm^3 de bouillon (bouillon de viande S. A. P. P. P.) sont ensemencés avec une anse de la souche (staphylocoque Oxford n° 6571 N. R. R. L. B. 314 de la National collection of type culture) (*) et placés à l'étuve pendant quatre heures.

B. — Préparation des milieux pour l'expérimentation

Certaines de nos expériences sont effectuées en milieu glucosé (concentration toujours la même de 30 p. 1.000),

---

(*) Nous adressons nos très vifs remerciements à M. le Docteur Antoine Bonnefoi, Chef du Service des sérums et vaccins à l'Institut Pasteur de Paris, qui a bien voulu nous fournir gracieusement les souches dont nous avions besoin.

d'autres en milieu non glucosé. Ce milieu sera toujours de l'eau peptonée à 30 p. 1.000 contenant 5 p. 1.000 de chlorure de sodium R. P. et amené à *p*H 7,5 avant stérilisation.

Tout au long de notre travail, nous avons utilisé la même peptone : peptone bactériologique des Usines chimiques des Laboratoires français.

A ces milieux (*), on ajoute 1 p. 100 en volume de la culture microbienne de quatre heures, avant de les répartir dans des tubes à hémolyse (3 cm³ par tube) ; l'ensemble des tubes ainsi préparés (16 par expérience, en général) est placé à l'étuve à 37° et, toutes les demi-heures, un tube est prélevé en vue de la mesure photométrique.

C. — Mesure

Le diffuso-absorptiomètre de Dognon est mis en jeu (Base 20, Grille I). Le voltage utilisé est variable afin de conserver ce même système de références, quelle que soit l'absorption du milieu non ensemencé (celui-ci nous servant à obtenir le zéro de l'appareil).

Lorsque l'on désire étudier l'influence jouée par une substance déterminée sur la croissance, on l'ajoute au milieu peptoné et l'on effectue parallèlement une étude en présence et en l'absence de la substance à étudier. On peut ainsi tracer, en fonction du temps, des courbes de croissance (**).

Nous indiquons ci-dessous une expérience type dans laquelle nous avons étudié la croissance du staphylocoque dans l'eau peptonée additionnée ou non de glucose

---

(*) Rappelons qu'il est nécessaire, pour une même expérience, d'utiliser la même préparation : dans ce but, nous préparions des ballons d'eau peptonée d'un volume suffisant pour toute une expérience (50 ou 100 cm³). Sinon, on peut obtenir des variations de coloration, liées à la stérilisation, qui faussent les résultats.

(**) Alors que nos mesures étaient en cours d'exécution, Beljanski [4] a publié un travail sur la croissance microbienne, mesurée par un procédé identique et mettant en œuvre l'électrophotomètre de Meunier.

(tableau VIII). Nos résultats sont illustrés par les courbes de la figure 1 (*).

Cette première expérience montre qu'en présence de glucose, la pousse microbienne est plus importante; cette constatation est d'ailleurs conforme aux données classiques.

Bien que cette technique nous ait donné entière satisfaction, nous avons cherché à la sensibiliser davantage en effectuant des essais en longueurs d'ondes variées. Nous nous sommes alors aperçu qu'en opérant en lumière verte nous obtenions plus de sensibilité. Les courbes des figures 2 et 3, qui correspondent à deux séries d'expériences effectuées parallèlement en lumière blanche et en lumière verte, consignent nos résultats (tableau IX).

Maintenant que nous possédons une technique permettant de suivre l'évolution de la pousse microbienne en fonction du temps, nous sommes à même d'effectuer notre étude sur l'influence jouée par les diverses substances lipidiques du sérum sanguin sur cette pousse.

II. — LES SUBSTANCES LIPIDIQUES SÉRIQUES

Le sérum sanguin contient des glycérides, des phosphatides, des stérides et des stérols représentés presque exclusivement par le cholestérol. En raison de leur structure variée, ces substances risquent de présenter des effets différents sur la pousse du staphylocoque; c'est la raison pour laquelle nous les avons étudiées séparément.

Ces substances sont toutes insolubles dans l'eau et les expériences déjà réalisées concernant l'effet des graisses sur la croissance microbienne les ont fait utiliser à l'état de suspensions; dans ces conditions, on peut se demander si leur contact avec le germe est bien efficace ! Pour éviter cette critique, nous les avons rendues hydrosolubles par la mise en œuvre des *tweens*, dont nous allons étudier l'action propre, après les avoir décrits.

(*) Nos figures sont toutes groupées à la fin de notre exposé (v. p. 73).

TABLEAU VIII. — Mesures opacimétriques de la croissance du staphylocoque.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Eau peptonée glucosée.	8	7	12	14	31	51,5	63	76,5	84	88	92	96,5	98	99,5	99
Eau peptonée.	5	6	8	11	26,5	40	49	51,5	53,5	55	57	58,5	60	62	63

TABLEAU IX. — Mesures opacimétriques comparées en lumière blanche et verte.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Première expérience :														
Lumière blanche	0	2,5	12	5	11	19	29,5	35,5	42	50,5	59	62,5	63	63,5
Lumière verte	0	5	13,5	8	14	22,5	34	44	56	63	73	76	77	79
Deuxième expérience.														
Lumière blanche	0	2,5	4	6	13,5	20,5	33	38	44	50	55	59	62	64
Lumière verte	0	2	5	12,5	17,5	27,5	36	46	57	63	70	75	80,5	84

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans ces tableaux correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

CHAPITRE II

ACTION DES DIVERS TWEENS SUR LA CROISSANCE MICROBIENNE DANS DES CONDITIONS NORMALES

I. — LES TWEENS

Pendant des siècles, les savons, sels alcalins d'acide gras, et, accessoirement, les saponosides, produits moussants d'origine végétale, étaient les seules substances superficiellement actives dont l'homme disposait. Depuis la fin du siècle dernier, les nécessités de l'industrie ont conduit les chimistes à élaborer des molécules de constitution chimique différente, mais de structure analogue, dont l'ensemble constitue le grand groupe des « détergents de synthèse » que nous possédons aujourd'hui.

Ces composés se répartissent en deux grands groupes selon qu'ils possèdent ou non des fonctions ionisées :

Les composés ioniques peuvent être :

a) Anioniques : c'est le cas des savons ordinaires ou des alcoyl sulfates;

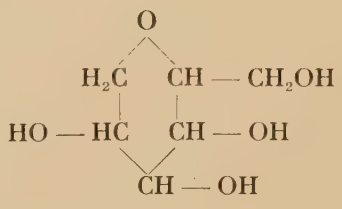
b) Cationiques : « savons inversés »;

c) Amphotères.

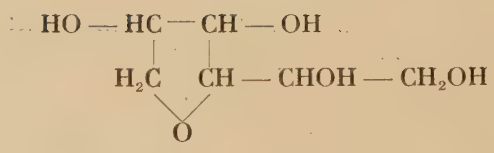
Les composés non ionisés possèdent les mêmes propriétés de surface que les produits précédents, mais se caractérisent par une grande neutralité chimique et biologique.

En dehors de quelques hétérosides phénoliques ou d'esters de la diéthanolamine, les plus importants ont leur groupement hydrophile constitué par une chaîne polyoxyéthylénique, provenant elle-même de la polymérisation de l'oxyde d'éthylène. C'est à ce groupe que l'on rattache les tweens dont nous nous sommes servi dans notre partie expérimentale. Rappelons qu'ils ont fait dans le laboratoire où nous avons travaillé l'objet d'un certain nombre de travaux [53, 54, 55, 56].

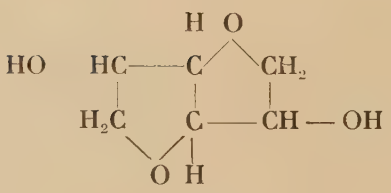
Les tweens sont des éthers polyoxyéthyléniques d'esters gras d'anhydride de sorbitol. Ils sont préparés de la manière suivante : le glucose, produit de base, est tout d'abord réduit et transformé en sorbitol; ce sorbitol, déshydraté, fournit un mélange d'anhydrides en 2-6 (I) ou en 3-6 (II), et même une petite quantité de dianhydrides en 1-4, 3-6 (III).



I



II



III

Ces anhydrosorbitols, désignés sous le nom général de « sorbitanes », sont ensuite traités par un acide gras en présence de soude (agissant comme catalyseur) : ils forment les esters correspondants qui sont commercialisés sous le nom de *spans*. Ces spans diffèrent les uns des autres par la nature et le nombre de molécules d'acides gras estérifiant le sorbitane. Les mono-esters laurique, palmitique, stéarique et oléique forment respectivement les spans 20, 40, 60, 80.

Les spans se présentent sous la forme d'huiles ou de composés cireux insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques. Ils manifestent cependant une certaine hydrophilie due à la présence de fonctions hydroxyle non estérifiées. Ils possèdent donc une structure « amphipathique » et sont habituellement utilisés comme émulsifiants pour les systèmes « eau dans huile ».

Lorsqu'on traite les spans par de l'oxyde d'éthylène sous pression, les chaînons CH_2-CH_2-O se soudent au niveau des groupements hydroxyle libres; ils augmentent leur hydrophilie et, lorsque 10 à 30 molécules d'oxyde d'éthylène sont ainsi engagées, on obtient un « tween ».

Les tweens sont désignés par les mêmes nombres que les spans, selon la nature de l'acide gras qu'ils renferment. Les tweens 20 et 80, dont nous nous sommes exclusivement servi pour notre travail expérimental, sont des esters laurique et oléique. Ces deux tweens se présentent sous l'aspect de liquides huileux à la température ordinaire, très solubles dans l'eau. Les solutions aqueuses subissent un phénomène de démixtion à température suffisamment élevée, mais le phénomène est réversible et, par refroidissement, on obtient de nouveau une solution homogène.

Les tweens possèdent la propriété de former avec de nombreuses substances des associations moléculaires et peuvent être utilisés pour entraîner en phase aqueuse de nombreux composés organiques non hydrosolubles. Les modalités de la solubilisation par les tweens ont été étudiées en détail par Neuzil [53, 54].

II. — ACTION DU TWEEN 80 SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

Afin de mieux connaître les modalités d'action des tweens, nous avons effectué toutes nos expériences en présence et en l'absence de glucose. De plus, nous avons étudié l'action de divers tweens à plusieurs concentrations : 1 p. 1.000, 1 p. 100, 10 p. 100.

A. — Action du tween 80 a 1 p. 1.000 en milieu glucosé

Nous appliquons le mode opératoire précédemment décrit et, dans cette série d'essais, nous suivons parallèlement la pousse microbienne en présence et en l'absence (témoin) de tween.

Le tableau X consigne les résultats que nous avons obtenus.

A ce tableau correspondent les courbes de la figure 4.

Ces résultats prouvent qu'en milieu glucosé, le tween 80 à la concentration de 1 p. 1.000 se trouve absolument sans influence sur la croissance du staphylocoque.

B. — Action du tween 80 a 1 p. 1.000 en milieu non glucosé

Nous avons mis en jeu le même mode opératoire. Le tableau XI consigne nos résultats, auxquels correspondent les courbes de la figure 5.

Ces résultats montrent qu'en l'absence de glucose, le tween 80 à la concentration de 1 p. 1.000 se montre sans effet sur la croissance microbienne.

Si nous désirons étudier l'action des lipides sériques, à la concentration mise en œuvre dans les expériences de Tayeau, Dulong de Rosnay et collaborateurs [75], il est indispensable de mettre en jeu des concentrations en tween

TABLEAU X. — Action du tween 80 a 1 p. 1.000 en milieu glucosé.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Témoin.....	0	5	4,5	7,5	21	35,5	56	67,5	82	87	91	92	91,5	91,5	91,5
Tween 80.....	0	8,5	8,5	6	15,5	30	47,5	64,5	77,5	86	90	93	92	92	92

TABLEAU XI. — Action du tween 80 a 1 p. 1.000 en milieu non glucosé.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Témoin.....	0	3,5	9	16	23,5	28,5	38,5	45	48	57,5	64,5	67,5	67,5	67,5	
Tween 80.....	0	2	7	12,5	20	27,5	38	44,5	47,5	56,5	64,5	67,5	70	69,5	

TABLEAU XII. — Action du tween 80 a 1 p. 100 en milieu glucosé.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Première expérience.															
Témoin	0	2	6,5	12	19,5	33,5	51,5	66	76	80	84	88	90,5	93	94
Tween 80.....	3	6	11	15	30,5	44	60,5	72	80	90	93	94,5	96	97	97,5
Deuxième expérience.															
Témoin	0	12,5	13,5	27,5	45	57,5	72,5	74,5	81	82	92	93	93	95	93
Tween 80.....	0	9,5	12	30	40,5	56	70	80,5	88	90	92	94	94	94	96

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans ces tableaux correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

beaucoup plus élevées. Pour cette raison, nous étudions les concentrations de 1 et 10 p. 100.

C. — Action du tween 80 a 1 p. 100 en milieu glucosé

Nous opérons comme précédemment, et nos résultats se trouvent dans le tableau XII, qui comporte deux séries d'expériences.

A ce tableau correspondent les courbes des figures 6 et 7.

Il résulte de ces essais qu'en milieu glucosé, le tween 80 favorise très légèrement la croissance microbienne.

Comment peut-on expliquer cette légère influence favorable du tween 80 ?

On peut supposer que certains constituants du tween sont utiles au métabolisme du germe; il faudrait alors admettre leur libération à la suite d'une hydrolyse partielle. Or, une telle hydrolyse, dans un milieu exempt de lipase, ne peut se produire qu'en milieu acide. Pour cette raison, nous avons pris les *p*H de nos milieux (tableau XIII).

Nos résultats montrent effectivement que les milieux, au fur et à mesure de la croissance, s'acidifient; cette acidification est due à la fermentation du glucose et à la production d'acide lactique. L'acide ainsi produit amène une hydrolyse partielle du tween, qui provoque une libération d'acide gras : ceci explique le *p*H légèrement inférieur des milieux contenant du tween par rapport aux milieux témoins. Cet essai montre donc qu'en milieu légèrement acide, le tween a tendance à s'hydrolyser et que l'un des constituants ainsi libéré exerce un effet favorable sur la croissance des germes.

D. — Action du tween 80 a 1 p. 100 en milieu non glucosé

Cette expérience, réalisée en tous points comme la précédente, a donné les résultats réunis dans le tableau XIV.

A ce tableau correspondent les courbes de la figure 8.

TABLEAU XIII. — Variation du *p*H dans le milieu de culture glucosé.

*p*H — Temps.... (heures)	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Première expérience :														
Témoin.....			6,77	6,83	6,73	6,66	6,44	6,38	6,10	6,04	5,72	5,63	5,48	5,50
Tween 80.....		6,82	6,77	6,74	6,71	6,46	6,00	5,98	5,73	5,54	5,43	5,31	5,30	5,22
Deuxième expérience :														
Témoin.....	6,76	6,72	6,85	6,78	6,54	6,35	6,28	6,05	5,96	5,76	5,76	5,62	5,60	5,50
Tween 80.....	6,69	6,72	6,85	6,48	6,34	6,04	5,95	5,78	5,61	5,57	5,46	5,42	5,39	5,32

TABLEAU XIV. — Action du tween 80 a 1 p. 100 en milieu non glucosé.

Temps.... (heures)	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30	8
Témoin.....	8,5	25	38	49,5	61	62,5	70,5	75,5	80,5	85	83,5	83,5	83	83,5
Tween 80.....	10,5	25	36,5	51	57	62,5	70	74,5	78,5	81	84	83,5	82	81

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans ces tableaux correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

L'expérience montre qu'en milieu non glucosé, le tween 80 à 1 p. 100 n'exerce aucune action. Cette constatation corrobore l'essai précédent; en l'absence de glucose, le *p*H n'est pas modifié, le tween garde son intégrité.

E. — Action du tween 80 a 10 p. 100 en milieu glucosé

Désirant mettre en jeu des quantités assez élevées de substances lipidiques dans les essais que nous avons l'intention de faire, nous étudions pour cela des concentrations plus élevées encore en tween, 10 p. 100 dans les expériences rapportées ci-dessous.

Nous avons réalisé trois séries d'expériences en utilisant le mode opératoire précédemment décrit. Nos résultats sont consignés dans le tableau XV.

A ces expériences correspondent les courbes de la figure 9.

Ces diverses expériences montrent qu'à la concentration élevée de 10 p. 100, le tween 80 constitue un élément défavorable à la croissance microbienne.

Il semble qu'il faille rattacher cette constatation à la viscosité et à la pression osmotique élevées du milieu d'expérience.

F. — Action du tween 80 a 10 p. 100 en milieu non glucosé

Nous avons également effectué trois séries d'expériences dont les résultats se trouvent réunis dans le tableau XVI.

A ce tableau correspondent les courbes de la figure 10.

Dans cette nouvelle série d'expériences, nous constatons, une fois encore, l'effet défavorable exercé par le tween 80 à 10 p. 100 sur la multiplication des germes. Il convient, cependant, de noter que cet effet est beaucoup plus net dans ces expériences que dans celles mettant en œuvre le milieu glucosé. Il est probable que cette constatation doit

TABLEAU XV. — Action du tween 80 a 10 p. 100 en milieu glucosé.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Témoin.....	0	2	6,5	12	19,5	33,5	51,5	66	76	80	84	88	90,5	93	94
Tween 80 1re expérience..		0	0	1,5	1,5	4,5	18,5	32	60,5	73,5	74	80,5	87	88,5	88,5
Tween 80 2e expérience...		2,5	1	3,5	6,5	17	21	29	40,5	62	73	77	82	90	90
Tween 80 3e expérience...	1,5	2	2	3	5,5	12,5	25,5	52	71	77,5	83	86	88	90	92

TABLEAU XVI. — Action du tween 80 a 10 p. 100 en milieu non glucosé.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Témoin.....	0	3	8,5	25	38	49,5	61	65,5	70,5	75,5	80,5	85	83,5	83,5	83,5
Tween 80 1re expérience...	4	0	0,5	4,5	6,5	13,5	23,5	40,5	45,5	58	58	55	54	51,5	49,5
Tween 80 2e expérience...	2,5	1,5	4	8,5	16	25	33,5	41,5	49,5	55	67,5	71,5	75,5	80	
Tween 80 3e expérience...	6	5,5	2	4	7,5	15,5	36,5	51	59,5	62	64,5	65	63	64	62,5

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans ces tableaux correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

être rattachée à la formation d'acide lactique dans le milieu glucosé. Celui-ci, abaissant le *p*H, favorise l'hydrolyse partielle du tween dont les constituants paraissent exercer un effet favorable sur la croissance. La mesure des *p*H dans les milieux des deux séries d'expériences corrobore cette supposition : nous constatons, en effet, que les *p*H des milieux sont nettement plus bas en présence qu'en l'absence de glucose (tableau XVII) ; plus d'une unité *p*H, en effet, sépare les deux cas.

Il résulte de tous les essais précédemment décrits que le tween 80 à forte concentration manifeste surtout son action en faisant apparaître une période de latence.

La différence observée n'est cependant pas considérable et, à condition d'opérer en présence d'un témoin, de fortes concentrations en tween 80 pourront éventuellement être mises en œuvre dans les expériences qui vont suivre.

III. ACTION DU TWEEN 20 SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

Désirant savoir si la nature de l'acide gras entrant dans la constitution du tween mis en jeu présentait une influence, nous avons effectué des expériences comparables à celles précédemment décrites, mais à la place du tween 80, à base d'acide oléique, nous avons utilisé le tween 20, à base d'acide laurique.

Dans cette série d'essais, nous avons opéré en présence de glucose.

A. — Action du tween 20 a 1 p. 10.000

Le tableau XVIII rapporte les résultats que nous avons obtenus.

Au tableau, correspondent les courbes de la figure 11.

Cet essai montre qu'à la concentration de 1 p. 10.000, le tween 20 n'a aucune influence sur la croissance du staphylocoque.

TABLEAU XVII. — Variations du *p*H dans les milieux de culture avec tween 80 a 10 p. 100.

*p*H		Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
	Milieu glucosé.	Exp. n° 1.		7,10	7,10	7,06	7,05	7,05	6,90	6,84	6,39	6,01	5,88	5,65	5,56	5,38	5,38
		Exp. n° 2.		7,15	7,12	7,03	7,04	7,02	6,95	6,76	6,65	6,57	6,30	6,20	6,04	5,90	5,72
		Exp. n° 3.	7,14	7,11	7,07	7,03	6,98	6,85	6,48	6,14	5,84	5,61	5,40	5,24	5,19	5,11	5,09
	Milieu non glucosé	Exp. n° 1.	7,15	7,24	7,26	7,19	7,26	7,22	7,18	7,05	6,84	6,78	6,83	6,82	6,78	6,87	6,95
		Exp. n° 2.	7,21	7,18	7,23	7,29	7,21	7,15	7,01	6,95	6,94	7,04	7,08	7,05	7,05	7,01	
		Exp. n° 3.	7,26	7,27	7,27	7,28	7,23	7,20	7,01	6,88	6,70	6,69	6,69	6,67	6,64	6,60	6,68

TABLEAU XVIII. — Action du tween 20 a 1 p. 10.000.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Témoin.....	4	5,5	9	9,5	14	19,5	31	39	50,5	59,5	67	69	79	79
Tween 20.....	4,5	5	5,5	7,5	12,5	19,5	31	39	48	58,5	66	71	75	70

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans le tableau XVIII correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

B. — Action du tween 20 a 1 p. 1.000

Le tableau XIX et la figure 12 consignent nos résultats; ils montrent que cette concentration de 1 p. 1.000 n'a pas plus d'influence sur la croissance du staphylocoque que la précédente.

C. — Action du tween 20 a 1 p. 100

Nos résultats sont exposés dans le tableau XX et les courbes de la figure 13.

A cette concentration, le tween 20 amène un léger ralentissement de la croissance du staphylocoque. Notons qu'à la même concentration, le tween 80 se montrait sans action, et même très légèrement favorable (nous sommes en milieu glucosé).

Intéressé par cette constatation, nous avons effectué une dernière expérience à la concentration de 10 p. 100.

D. — Action du tween 20 a 10 p. 100

Le tableau XXI et les courbes de la figure 14 illustrent nos résultats.

Ceux-ci montrent qu'à la concentration de 10 p. 100 le tween 20 exerce sur la croissance du staphylocoque un effet nettement défavorable.

Il semble probable que la viscosité élevée du milieu doive constituer un facteur peu propice au développement des germes. Mais, malgré tout, nous devons remarquer que le tween 20 présente une toxicité plus grande que le tween 80. Le remplacement de l'acide oléique par l'acide laurique n'est certainement pas étranger à ce résultat. Notons à ce sujet que Neuzil [53], étudiant la toxicité des tweens sur un organisme vivant, en l'occurrence *Daphnia pulex*, signale lui aussi la particulière toxicité du tween 20.

TABLEAU XIX. — Action du tween 20 a 1 p. 1.000.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Témoin.....	0,5	1	3,5	6,5	10	16	30	40	51,5	62,5	73	79	84	84
Tween 20.....	0	0	0,5	5	8,5	17	27,5	36,5	50	62,5	70	76,5	80	84

TABLEAU XX. — Action du tween 20 a 1 p. 100.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Témoin.....	4	4	7	13,5	22,5	33	45	62,5	67,5	72	78	84,5	84,5	84,5
Tween 20.....	4	6,5	7	15	22,5	27,5	41	53	62,5	66	73	80	82	84

TABLEAU XXI. — Action du tween 20 a 10 p. 100.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Témoin.....	11	4,5	6	7	15	19	31,5	47	59	66	77	85	85,5	86
Tween 20.....	5	0	1,5	4	6	13,5	25	35	41	51	61	69	74	75

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans ces tableaux correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

A une concentration inférieure à 10 p. 100 et dans les conditions normales (milieu neutre), les tweens, et tout particulièrement le tween 80, n'exercent aucune action sur la croissance du staphylocoque. Lorsque la concentration atteint ou dépasse 10 p. 100, une légère action inhibitrice apparaît.

CHAPITRE III

ACTION DU TWEEN 80 SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE DANS DES CONDITIONS DÉFAVORABLES

Dans le précédent chapitre, nous avons insisté sur l'une de nos expériences montrant que les tweens exercent un effet favorable sur la croissance du staphylocoque, lorsque le milieu s'acidifie (par fermentation du sucre présent).

Cette remarque nous a incité à étudier le phénomène de plus près car, dans certaines occasions, on peut être amené à opérer à des *p*H acides; ceux-ci restent cependant très limités, la croissance microbienne étant totalement inhibée dès que certaines valeurs de *p*H sont atteintes. Si donc la présence de tween peut permettre de pallier cet inconvénient et de pousser plus loin cette limite, des études fort intéressantes, effectuées en milieu acide, pourraient être réalisées. C'est pourquoi nous avons désiré étudier l'influence exercée par les tweens sur la croissance du staphylocoque dans des conditions défavorables, comme le milieu acide.

Dans cette étude, nous avons mis en œuvre le tween 80 à la concentration de 1 p. 100 et nous avons réalisé deux séries d'expériences : l'une en milieu glucosé, l'autre en milieu non glucosé.

A. — Action du tween 80 a 1 p. 100 sur la croissance du staphylocoque, a *p*H acide et en milieu glucosé

L'expérience a été réalisée suivant la technique précédemment décrite. Le tableau XXII rapporte nos résultats, complétés par la valeur du *p*H de chaque milieu.

Au tableau correspondent les courbes de la figure 15.

Ces résultats montrent nettement qu'en milieu acidé, le tween 80 à la concentration de 1 p. 100 exerce un effet très favorable sur la croissance du staphylocoque : malgré le maintien du *p*H à des valeurs assez basses, la croissance atteint, en présence de tween, des valeurs presque normales.

Cette première expérience s'est trouvée confirmée en tous points par d'autres que nous ne rapportons pas afin de ne pas surcharger notre texte.

B. — Action du tween 80 a 1 p. 100 sur la croissance du staphylocoque, a *p*H acide et en milieu non glucosé

Le tableau XXIII, auquel correspondent les courbes de la figure 16, consigne nos résultats.

Même en l'absence de glucose, le tween exerce un effet favorable sur la croissance du staphylocoque à des *p*H acides. Le phénomène est cependant moins net qu'en présence de glucose : cette constatation corrobore l'observation précédemment faite, à savoir que les produits d'hydrolyse des tweens, d'autant plus facilement libérables que le *p*H est acide, exercent un effet favorable sur la croissance du staphylocoque; or, les *p*H du milieu glucosé sont effectivement plus bas que ceux du milieu exempt de glucose.

C. — Action du tween 80 a 1 p. 100 sur un milieu dépourvu de chlorure de sodium

Nous avons désiré savoir si cette action favorisante du tween 80 dans des conditions défavorables était seulement valable pour les milieux acides ou bien si elle était susceptible de s'étendre à d'autres milieux.

TABLEAU XXII. — Action du tween 80 a 1 p. 100 en milieu glucosé (*p*H acide).

	Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
Lectures opacimétriques	Témoin.....	0	0	0	0	3,5	4	5	9	14	19,5	28	32	36	34	25
	Tween 80.....	0	0	0	0	2,5	7,5	11	19	29,5	32,5	44,5	56	65,5	68,5	66,5
*p*H	Témoin.....	5,78	5,71	5,71	5,80	5,71	5,71	5,74	5,81	5,64	5,54	5,60	5,46	5,55	5,57	5,54
	Tween 80.....	5,75	5,72	5,80	5,80	5,73	5,69	5,78	5,79	5,57	5,48	5,49	5,37	5,37	5,30	5,29

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués ci-dessus correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

TABLEAU XXIII. — Action du tween 80 a 1 p. 100 en milieu non glucosé (*p*H acide).

	Temps.... (heures)	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30	8
Lectures opacimétriques	Témoin.....	5	1	3	7,5	14	20	29	29,5	34	45,5	46,5	49,5	61	62	61,5
	Tween 80.....	4	12,5	18,5	27,5	36	42,5	49	54,5	60	69,5	73,5	77,5	77,5	77	76,5
*p*H	Témoin.....	5,97	5,88	5,86	5,74	5,69	5,65	5,65	5,75	5,74	5,73	5,86	5,90	5,90	5,90	5,91
	Tween 80.....	5,88	5,89	5,80	5,70	5,68	5,60	5,56	5,62	5,80	5,85	5,87	6,08	6,08	5,99	6,02

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués ci-dessus correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

Pour répondre à la question, nous avons effectué une nouvelle série d'expériences en opérant en l'absence de chlorure de sodium, dont l'influence sur la croissance est importante.

Les résultats de cette expérience figurent dans le tableau XXIV, auquel correspondent les courbes de la figure 17.

TABLEAU XXIV.

ACTION DU TWEEN 80 A 1 P. 100 DANS UN MILIEU DE CULTURE SANS CHLORURE DE SODIUM.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Témoin.....	2	3	5	6,5	9,5	12	25	29	34,5	43	48	54	57	57
Tween 80.....	2	3	4	5	8	15	22	32,5	42	53	60,5	63,5	68	70

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués ci-dessus correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de DOGNON.

Ces résultats montrent que, dans un milieu sans chlorure de sodium, le tween 80 exerce une action très favorable.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

Le tween 80, à la concentration de 1 p. 100, exerce une action très favorable sur la croissance du staphylocoque, lorsque le milieu est acide (*p*H 5,5 à 6).

Cette observation permet désormais d'effectuer des expériences sur la multiplication des germes en milieu acide, le tween 80 étant susceptible de pallier les inconvénients de l'acidité.

Il permet aussi de réaliser des expériences en l'absence de chlorure de sodium.

CHAPITRE IV

ACTION DU CHOLESTÉROL SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

Les divers lipides du sérum sanguin se trouvent fixés aux protéines et, sous cette forme, masqués à leurs réactifs habituels. Si donc on veut étudier l'action des diverses substances lipidiques du sang sur la croissance microbienne des bactéries, il convient de les étudier à l'état dissous, dans un état comparable à celui du sérum.

Neuzil, Tabone et Marquevielle [57] ont montré que le cholestérol peut être solubilisé dans l'eau avec l'aide des tweens et ces auteurs ont décrit les conditions dans lesquelles il convient d'opérer pour obtenir le meilleur rendement; leur technique leur a d'ailleurs permis d'intéressantes études physiologiques (Neuzil et Marquevielle [56]).

Les complexes tween-cholestérol sont préparés en portant au bain-marie à 100° une suspension de cholestérol pulvérisé dans une solution de tween; si la concentration en cholestérol n'excède pas 6 p. 100 par rapport à celle du tween, le stérol se dissout peu à peu et ne précipite pas au cours du refroidissement.

C'est un tel complexe cholestérol-tween que nous avons ajouté à nos milieux de culture. La concentration finale en cholestérol est de 1 p. 1.000, c'est-à-dire très notable-

ment supérieure à celle des milieux additionnés de sérum [74], et celle en tween de 25 p. 1.000, c'est-à-dire sans influence sur la multiplication des germes. L'expérience, réalisée en tous points comme les précédentes, est effectuée en présence de glucose. Le tableau XXV et les courbes de la figure 18 indiquent nos résultats. Pour éliminer les possibilités d'action du tween, notre témoin contient toujours une quantité de tween équivalente à celle mise en jeu pour notre recherche.

TABLEAU XXV

Action du cholestérol a 1 p. 1.000.

Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
Témoin....	4,5	4,5	8	14	20	33	48	64,5	73,5	77	79,5	81	82	82
Cholestérol ...	1,5	1,5	3	6	15	27	46	60	71	74,5	78	80,5	82	82

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués ci-dessus correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

Ces résultats montrent que le cholestérol à l'état d'association moléculaire cholestérol-tween se montre absolument sans effet sur la croissance du staphylocoque.

Si les substances lipidiques du sérum sanguin exercent une action sur la croissance des germes, l'effet n'est pas dû au cholestérol.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

Le cholestérol se montre sans action sur la croissance du staphylocoque.

CHAPITRE V

ACTION DES ACIDES GRAS, DES ESTERS ET DES GLYCÉRIDES SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE.

Nous avons décrit précédemment les travaux concernant le rôle exercé par les acides gras sur la multiplication des germes (voir p. 27). Dans la plupart de ces travaux, les acides gras ont été utilisés tels quels ou sous forme de savons, c'est-à-dire dans un état très différent de celui du sérum sanguin.

I. — ACIDES GRAS

Là encore, nous avons mis en œuvre des complexes tween-acides gras. Utilisant les travaux de Neuzil [53], nous avons préparé de tels complexes, dans lesquels le rapport acide oléique-tween 80 était de 5 p. 100. C'est la concentration maximum en acide oléique permettant la solubilisation totale de cet acide gras en milieu aqueux. Nous avons ajouté de tels complexes à notre milieu de culture.

Quel ne fut pas alors notre étonnement de constater, avant même le séjour à l'étuve, que nos milieux présentaient un louche qui allait s'intensifiant avant de se résoudre en un précipité.

Nous avons tout d'abord cru que ce précipité était dû à la formation de complexes insolubles entre les acides gras et les peptones contenues dans le milieu de culture.

A cet effet, nous avons réalisé une série d'essais au cours desquels nous avons étudié l'action du complexe tween-acide oléique vis-à-vis des différentes fractions du sérum, espérant mettre ainsi en évidence un précipité semblable à celui que nous avions obtenu avec l'eau peptonée. Mais malgré de longs séjours à basse température (0°), qui favorisent la formation de ce précipité, nous n'observâmes l'apparition d'aucun louche et les mesures photométriques furent, elles aussi, négatives. Il semblait donc que notre première hypothèse ne se vérifiait pas. Aussi, avons-nous cru utile de reprendre une étude directe du précipité, étude assez difficile car ce précipité est délicat à obtenir. Après une longue centrifugation à la chambre froide, afin que le précipité ne disparaisse pas (la chaleur due à la centrifugation suffisant à redonner des complexes solubles avec le tween que contient le milieu), nous obtenons un faible précipité blanc.

Nous avons soumis le précipité recueilli à l'analyse :

Traité par de l'eau distillée tiède, nous obtenons une suspension blanchâtre. Cette suspension mise au bain-marie à 100° pendant dix minutes ne présente pas de solubilisation apparente.

L'addition de 1 g de tween 80 à 1 cm^3 de la suspension mise au bain-marie provoque l'éclaircissement rapide du milieu.

Les variations de *p*H n'entraînent aucun changement dans la suspension, mais, en abaissant le *p*H du milieu eau peptonée tween-acide oléique, on remarque une disparition du précipité vers *p*H 6.

Par centrifugation de la suspension trente minutes à 5.000 tours-minute, nous n'obtenons qu'une sédimentation partielle; il reste un liquide surnageant blanc lactescent et le culot est très diminué de volume.

L'action de l'éther provoque une réunion à l'interface des éléments en suspension dans le liquide surnageant avec peut-être une tendance plus hydrophile; il ne semble pas y avoir de solubilisation apparente du précipité.

L'alcool est sans action à froid comme à chaud.

Enfin nous avons mis en évidence et une captation d'iode par le précipité en suspension aqueuse et, en utilisant la technique au rhodizonate de sodium proposée par Feigl [26 bis], la présence de calcium dans notre précipité.

Signalons toutefois qu'il nous a été nécessaire de reprendre le précipité par de l'eau chlorhydrique à chaud avant d'ajouter, après neutralisation, le réactif au rhodizonate de sodium.

Il est donc fort probable que nous nous trouvons en présence d'oléate de calcium obtenu à partir du calcium que contient la peptone que nous utilisons.

Pour obvier à cet inconvénient, dans les limites de *p*H où nous travaillons, nous avons mis en œuvre, non plus des acides gras, mais leurs esters, qui ne donnent aucun précipité avec nos milieux.

II. — ESTERS D'ACIDES GRAS

A. — Action de l'oléate d'éthyle sur la croissance du staphylocoque

Dans cette expérience, nous nous plaçons volontairement en l'absence de glucose afin de rendre plus sélectives les différences observées.

Le complexe tween 80 - oléate d'éthyle a été préparé selon les données de Neuzil [53]. Nos milieux contiennent finalement 2 p. 1.000 d'oléate d'éthyle et 33 p. 1.000 de tween 80.

Les résultats obtenus dans deux de nos expériences se trouvent consignés dans le tableau XXVI auquel correspondent les courbes des figures 19 et 20.

TABLEAU XXVI. — Action de l'oléate d'éthyle a 2 p. 1.000.

	Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7
1re expér.	Témoin.....	0	5	11,5	19	33,5	37,5	45	51,5	57	61	63,5	65,5	67	65
	Oléate d'éthyle.....	1	5	11,5	20	31	37,5	45	51,5	57	60,5	64	68	67	65
2e expér.	Témoin.....	2,5	6	9	13	17	32	40	48	53,5	59	61	63,5	65,5	67
	Oléate d'éthyle.....	2,5	6	10	15	21	34	43,5	50	57	61	66	67	68	68

TABLEAU XXVII. — Action du laurate d'éthyle a 2,5 p. 1.000.

	Temps.... (heures)	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
1re expér.	Témoin.....	5	13	20	28	40	47	53	60	62	64,5	68	67	66	66
	Laurate d'éthyle.....	1,5	7,5	14	24,5	33,5	37,5	40,5	46	50	54	57	60	62	62
2e expér.	Témoin.....	5	10	16	19,5	27	33	40,5	46,5	54	60	62	63,5	65	65
	Laurate d'éthyle.....	5	9	13	20	23,5	31	37	42,5	49	52	57	60	62,5	63

TABLEAU XXVIII. — Action de la trioléine a 2 p. 1.000.

	Temps.... (heures)	0 30	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30
1re expér.	Témoin....	0	9	16,5	28	34	43	50	56	60	63	65	66	66	65,5	65
	Trioléine ..	2	10	18	25	31,5	40,5	48	53	58	61	64	65,5	66,5	66	65
2e expér.	Témoin....	0	0	6	15	22,5	29,5	37	43,5	48	54	60	63,5	65,5	65,5	65,5
	Trioléine...	0	0	3,5	13	21	29	35	40	43,5	50	54,5	59	63,5	64,5	65

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués dans ces tableaux

Les différences observées entre les deux expériences entrent dans le cadre des erreurs d'expérience. On peut donc dire que l'ester éthylique de l'acide oléique se montre sans action sur la croissance du staphylocoque.

B. — Action du laurate d'éthyle sur la croissance du staphylocoque

Les deux expériences décrites ci-dessous sont effectuées en tous points comme les précédentes; seule diffère la concentration en laurate d'éthyle, qui atteint ici le taux de 2,5 p. 1.000. La concentration en tween est toujours de 33 p. 1.000.

Nos résultats se trouvent illustrés par le tableau XXVII et les courbes des figures 21 et 22.

L'examen des chiffres et des courbes montre que le laurate d'éthyle exerce un très léger effet défavorable sur la croissance du staphylocoque.

Ces faits sont à rapprocher des expériences réalisées par Dervichian [20] et des résultats obtenus avec le tween 20 (à base d'acide laurique).

III. — ACTION DES GLYCÉRIDES

Action de la trioléine sur la croissance du staphylocoque

Dans le sérum sanguin, il n'existe pas d'acides gras libres, ceux-ci se trouvent en grande partie sous forme de glycérides. C'est la raison pour laquelle nous avons étudié l'action de la trioléine sur la croissance du staphylocoque.

Mettant en œuvre le même mode opératoire et les données établies par Neuzil [53], nous avons réalisé deux séries d'expériences dont les résultats se trouvent réunis dans le tableau XXVIII, auquel correspondent les courbes des figures 23 et 24.

Concentration en trioléine : 2 p. 1.000; en tween : 33 p. 1.000.

Ces deux séries d'essais montrent que la trioléine, à la concentration à laquelle nous l'avons utilisée, est sans action sur la croissance du staphylocoque.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE V

L'influence des esters d'acides gras sur la croissance du staphylocoque a été étudiée : si l'ester oléique n'exerce aucune action, l'ester laurique, en revanche, manifeste un effet légèrement frénateur.

La trioléine est sans action.

CHAPITRE VI

ACTION DES PHOSPHATIDES SUR LA CROISSANCE DU STAPHYLOCOQUE

Parmi les lipides du sérum sanguin, les phosphatides occupent une place privilégiée : il semble qu'ils soient directement fixés sur les protéines, tandis que le cholestérol présenterait une situation périphérique [72]; de plus, certaines propriétés des lipides sériques leur sont dues : en l'absence des phosphatides, la précipitation des immunsérums ne se produit plus [76], tandis que les autres lipides ne semblent pas intervenir; enfin, la présence dans leur molécule d'acide phosphorique leur confère un rôle métabolique important.

Pour cette raison, nous avons cru essentiel d'étudier l'action des phosphatides sur la croissance du staphylocoque.

Si d'importantes études concernant la solubilisation du cholestérol, des acides gras, des esters et des glycérides par les tweens ont été réalisées, aucune recherche, à notre connaissance, n'a été effectuée sur la solubilisation des phosphatides par les tweens.

Pour cette raison, ce chapitre comprend deux parties :

a) Mise au point d'une technique de solubilisation des phosphatides par les tweens;

b) Action des complexes tween-phosphatides sur la croissance du staphylocoque.

I. — Mise au point d'une technique de solubilisation des phosphatides (lécithines) par les tweens

Nous nous sommes servi de lécithines du commerce (*) que nous avons purifiées de la manière suivante :

Une portion de 2 à 3 grammes de lécithines, préalablement déshydratée, par séjour sous vide phosphorique, est dissoute dans la quantité minimum de chloroforme. Cette solution chloroformique est filtrée et le filtrat additionné d'un excès d'acétone; on obtient ainsi un précipité blanc qui est immédiatement recueilli par centrifugation. Les mêmes opérations sont répétées à nouveau et la fraction lipidique insoluble dans l'acétone est séchée sous vide.

On dissout alors une quantité aliquote de cette dernière fraction dans l'éthanol et l'on y ajoute des quantités variables de tween 80. On obtient une solution parfaitement limpide dont on chasse l'alcool par ébullition sous vide.

On examine enfin la solubilité dans l'eau du résidu ainsi obtenu : on s'aperçoit alors que, pour un rapport $\frac{\text{lécithines}}{\text{tween 80}}$ égal à 0,10 et pour des rapports correspondant à des mélanges plus riches en tween 80 on obtient des solutions aqueuses parfaitement limpides.

C'est une solution correspondant à un rapport de 0,10 que nous avons utilisée dans nos essais.

(*) Lécithine pure Prolabo.

II. — Action des complexes tween-phosphatides (lécithines) sur la croissance du staphylocoque

Mettant en œuvre les données précédemment établies, nous avons réalisé une expérience comparable à celles antérieurement décrites.

La concentration en tween 80 est de 33 p. 1.000, soit donc une concentration en lécithines de 3,3 p. 1.000.

Nos résultats sont réunis dans le tableau XXIX. A celui-ci correspondent les courbes de la figure 25.

TABLEAU XXIX

Action des lécithines a la concentration de 3,3 p. 1.000.

Temps .. (heures)	1	1 30	2	2 30	3	3 30	4	4 30	5	5 30	6	6 30	7	7 30	8
Témoin. .	5,5	10	18,5	26,5	39	41	44,5	49	52	58	61	63,5	65	63	63
Lécithines.	7,5	13	21,5	30	33	44	45,5	53,5	57	60	65	65	65,5	64,5	63,5

N. B. — Tous nos chiffres de mesures opacimétriques indiqués ci-dessus correspondent aux graduations du diffuso-absorptiomètre de Dognon.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE VI

Les phosphatides (lécithines) se montrent sans action sur la croissance du staphylocoque.

COURBES REPRÉSENTATIVES DES VARIATIONS DE LA CROISSANCE MICROBIENNE

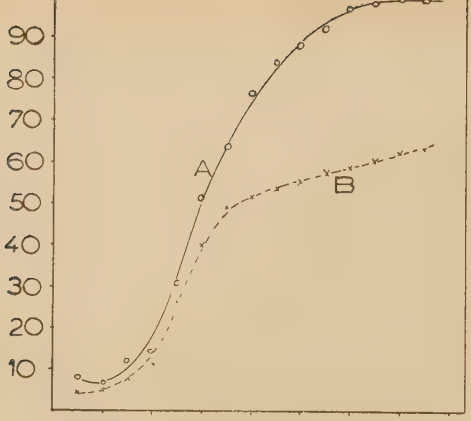


FIGURE 1

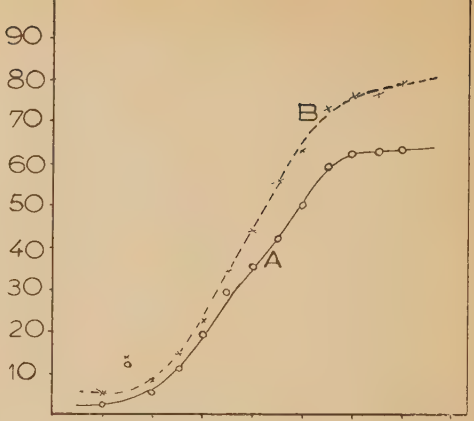


FIGURE 2

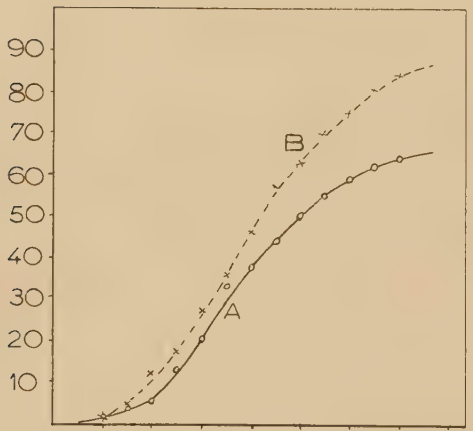


FIGURE 3

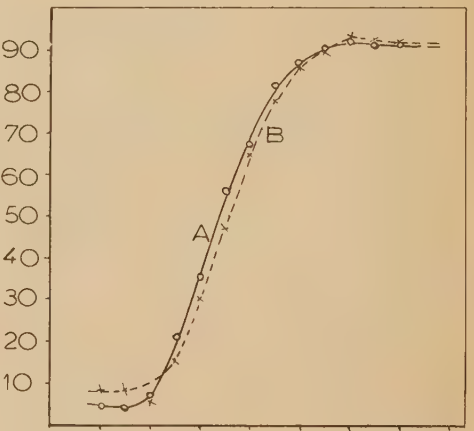


FIGURE 4

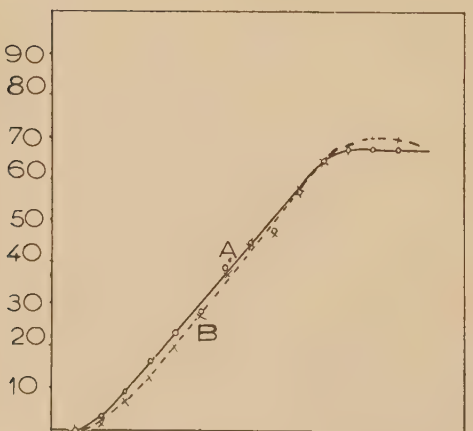


FIGURE 5

COURBES REPRÉSENTATIVES DES VARIATIONS DE LA CROISSANCE MICROBIENNE EN FONCTION DU TEMPS.

Ordonnées : opacités (graduations du diffuso-absorptiomètre de DOGNON).

Abscisses : temps (heures).

FIG. 1. — *A :* eau peptonée glucosée.
B : eau peptonée.

FIG. 2 et 3. — *A :* lumière blanche.
B : lumière verte.

FIG. 4. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin).
B : en présence de tween 80 à 1 p. 1.000.

FIG. 5. — *A :* eau peptonée (témoin).
B : en présence de tween 80 à 1 p. 1.000.

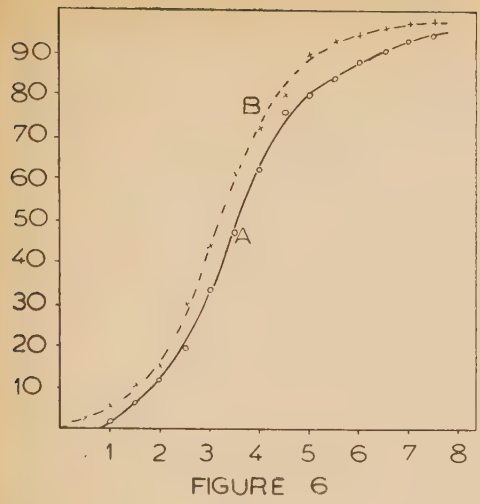


FIGURE 6

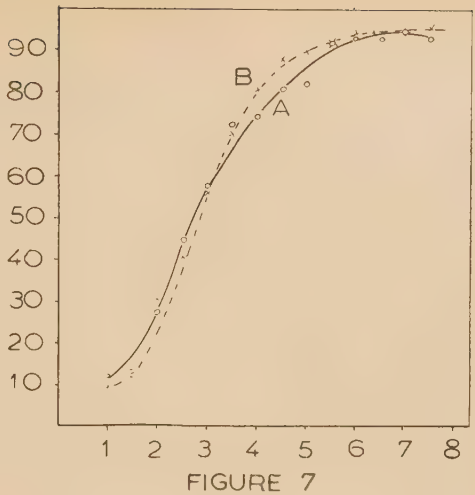


FIGURE 7

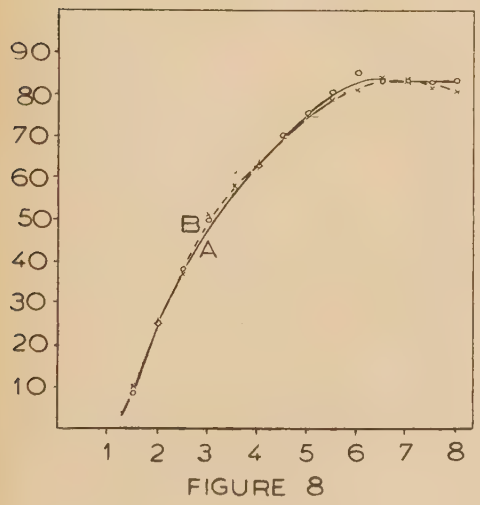


FIGURE 8

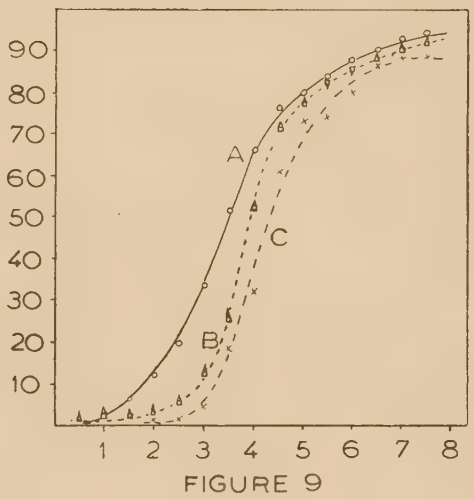


FIGURE 9

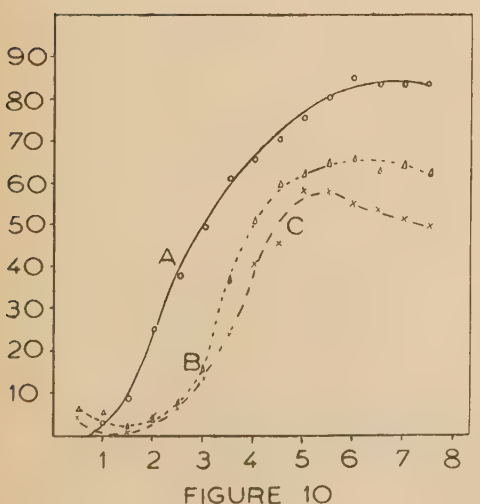


FIGURE 10

COURBES REPRÉSENTATIVES DES VARIATIONS DE LA CROISSANCE MICROBIENNE EN FONCTION DU TEMPS.

Ordonnées : opacités (graduations du diffuso-absorptiomètre de DOGNON).

Abscisses : temps (heures).

FIG. 6 et 7. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin).
B : en présence de tween 80 à 1 p. 100.

FIG. 8. — *A :* eau peptonée (témoin).
B : en présence de tween 80 à 1 p. 100.

FIG. 9. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin).
B : en présence de tween 80 à 10 p. 100.
C : en présence de tween 80 à 10 p. 100.

FIG. 10. — *A :* eau peptonée.
B : en présence de tween 80 à 10 p. 100.
C : en présence de tween 80 à 10 p. 100.

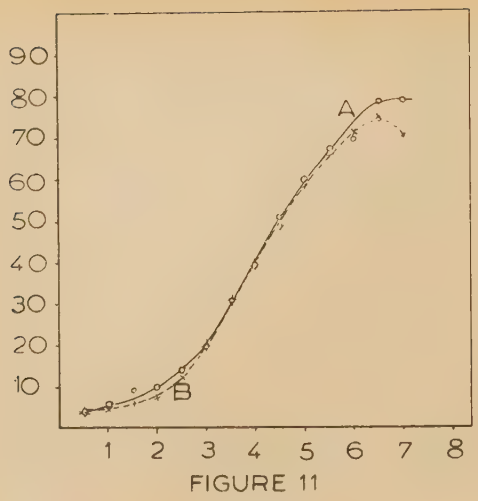


FIGURE 11

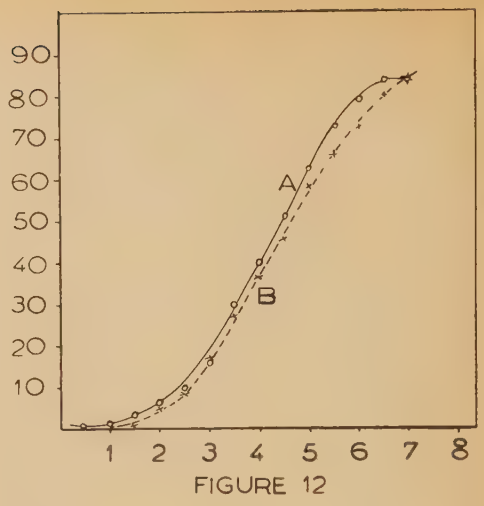


FIGURE 12

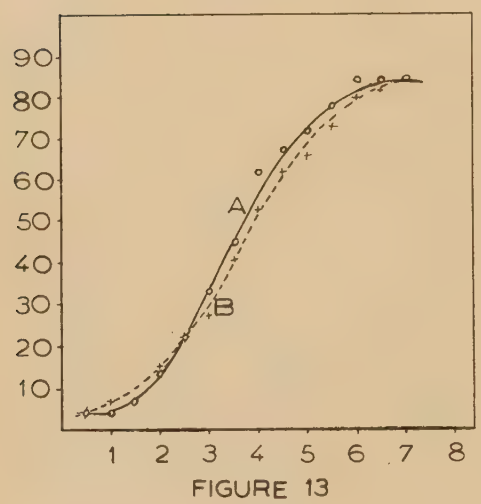


FIGURE 13

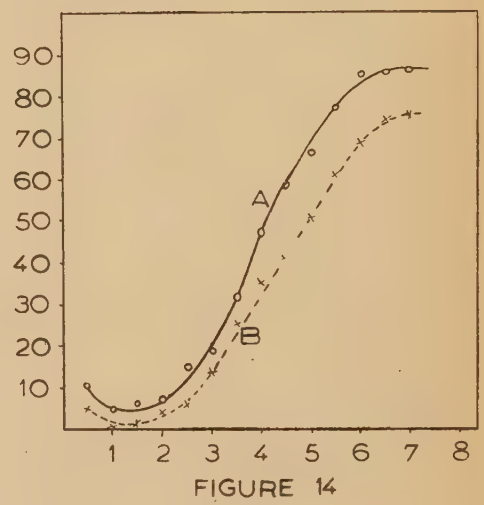


FIGURE 14

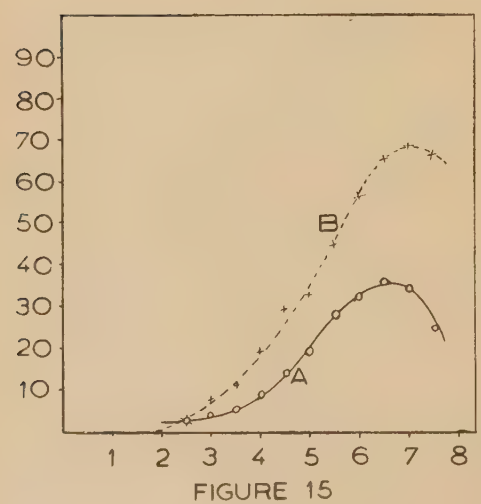


FIGURE 15

COURBES REPRÉSENTATIVES DES VARIATIONS DE LA CROISSANCE MICROBIENNE EN FONCTION DU TEMPS.

Ordonnées : opacités (graduations du diffuso-absorptiomètre de DOGNON).

Abscisses : temps (heures).

FIG. 11. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin). *B :* en présence de tween 20 à 1 p. 10.000.

FIG. 12. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin). *B :* en présence de tween 20 à 1 p. 1.000.

FIG. 13. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin). *B :* en présence de tween 20 à 1 p. 100.

FIG. 14. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin). *B :* en présence de tween 20 à 10 p. 100.

FIG. 15. — *A :* eau peptonée glucosée, à *p*H acide (témoin). *B :* en présence de tween 80 à 1 p. 100.

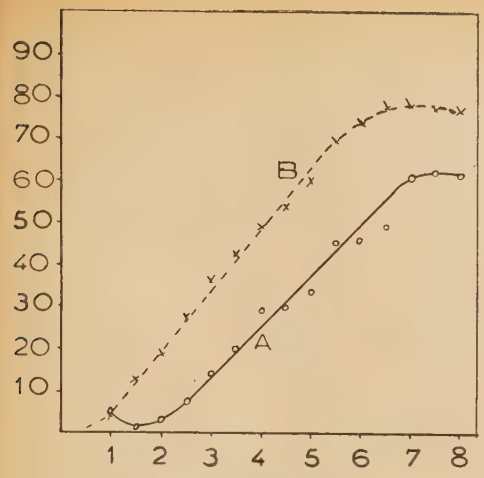


FIGURE 16

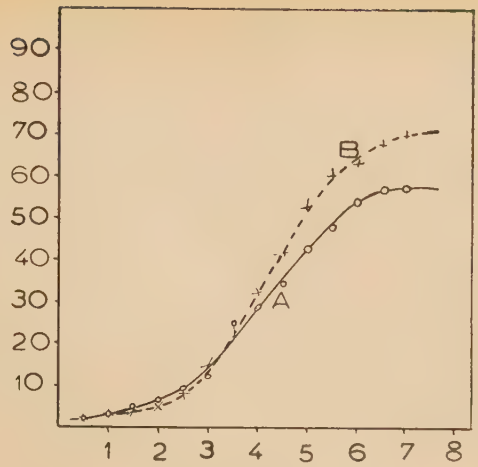


FIGURE 17

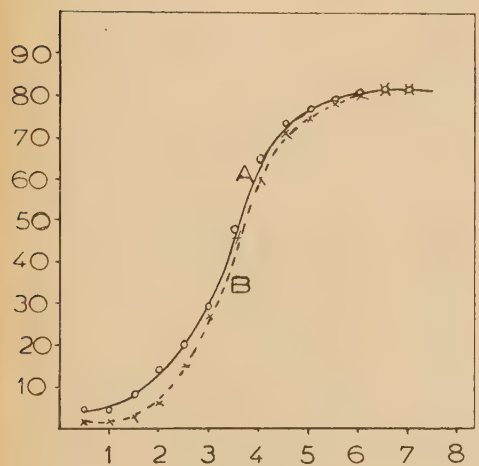


FIGURE 18

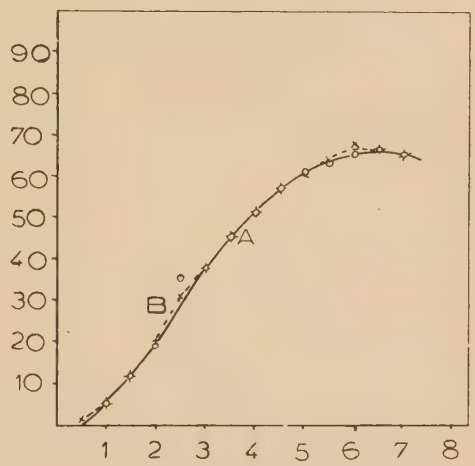


FIGURE 19

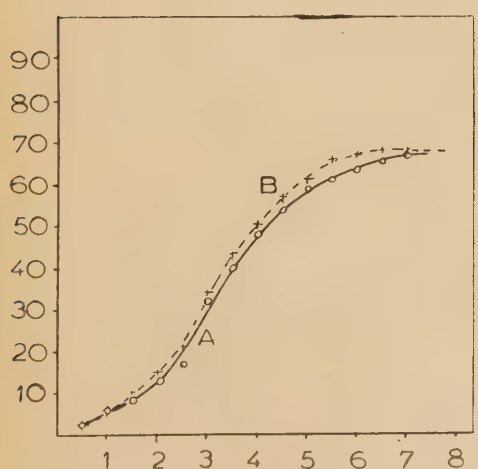


FIGURE 20

COURBES REPRÉSENTATIVES DES VARIATIONS DE LA CROISSANCE MICROBIENNE EN FONCTION DU TEMPS.

Ordonnées : opacités (graduations du diffuso-absorptiomètre de DOGNON).

Abscisses : temps (heures).

FIG. 16. — *A :* eau peptonée à *p*H acide (témoin).
B : en présence de tween 80 à 1 p. 100.

FIG. 17. — *A :* eau peptonée glucosée sans chlorure de sodium (témoin).
B : en présence de tween 80 à 1 p. 100.

FIG. 18. — *A :* eau peptonée glucosée (témoin).
B : en présence de cholestérol.

FIG. 19 et 20. — *A :* eau peptonée (témoin).
B : en présence d'oléate d'éthyle.

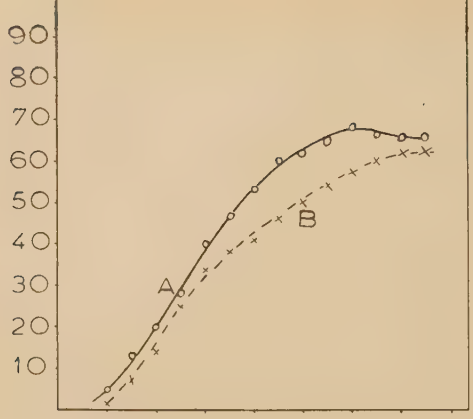


FIGURE 21

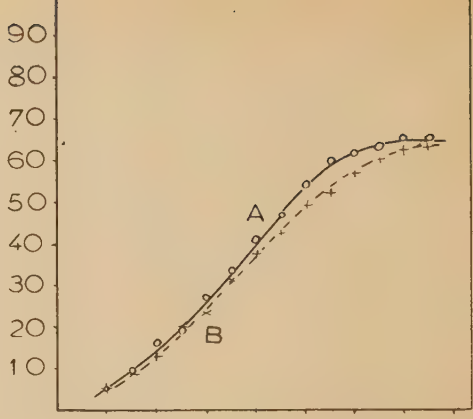


FIGURE 22

FIGURE 23

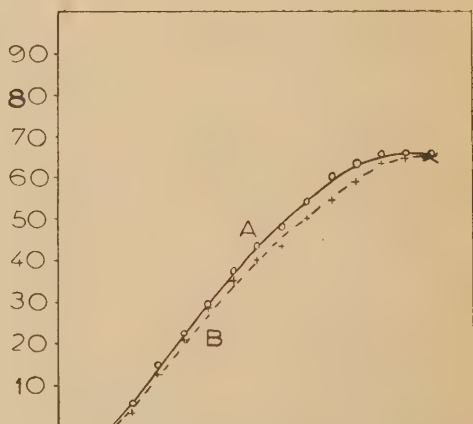


FIGURE 24

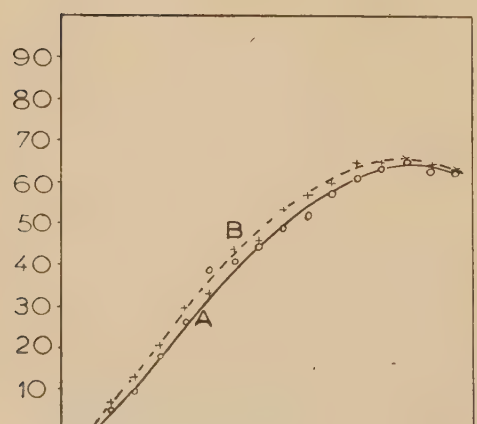


FIGURE 25

COURBES REPRÉSENTATIVES DES VARIATIONS DE LA CROISSANCE MICROBIENNE EN FONCTION DU TEMPS.

Ordonnées : opacités (graduations du diffuso-absorptiomètre de DOGNON).

Abscisses : temps (heures).

FIG. 21 et 22. — *A :* eau peptonée (témoin).
B : en présence de laurate d'éthyle.

FIG. 23 et 24. — *A :* eau peptonée (témoin).
B : en présence de trioléine.

FIG. 25. — *A :* eau peptonée (témoin).
B : en présence de lécithines.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

A la suite d'observations concernant le rôle inhibiteur exercé par les protéines sériques sur l'activité de la streptomycine vis-à-vis du staphylocoque, Tayeau et collaborateurs ont été amenés à envisager diverses hypothèses. L'une de ces hypothèses concernait l'effet défavorable éventuel joué par les lipides sériques sur la croissance des germes.

Diverses recherches, que nous rapportons et que nous discutons dans notre travail, avaient déjà été réalisées dans ce domaine, mais toutes mettaient en œuvre des acides gras libres ou des savons, c'est-à-dire des graisses dans un état très différent de celui du sérum sanguin. Pour obvier à cet inconvénient et éliminer le rôle joué par les protéines, nous mettons en jeu divers lipides à l'état d'associations moléculaires avec les tweens. Une telle technique cependant ne saurait avoir de valeur que si les tweens se montrent sans influence. C'est pourquoi la première partie de nos recherches expérimentales est consacrée à une étude sur le rôle exercé par les tweens sur la croissance du staphylocoque.

Le tween 80, à la concentration de 1 p. 1.000 et de 1 p. 100 est absolument sans action sur la croissance du germe. A la concentration de 10 p. 100, il manifeste une très légère action frénatrice, due sans doute à la viscosité et à la pression osmotique du milieu.

Si le milieu contient du glucose, le tween 80 exerce un léger effet favorable sur la pousse; cela semble dû à la

production d'acide lactique qui, abaissant le *p*H, favorise l'hydrolyse partielle du tween, dont certains constituants sont utiles aux bactéries.

Le tween 20, aux faibles concentrations (1 p. 10.000, 1 p. 1.000), se montre sans effet sur la croissance mais, à la concentration de 10 p. 100, et peut-être même déjà à 1 p. 100, il exerce un effet défavorable faible.

En milieu acide (*p*H 5,5), comme en l'absence de chlorure de sodium, la croissance des germes est très fortement ralentie, mais elle reprend une valeur normale en présence de tween 80. Cette constatation permettra désormais de réaliser des cultures en milieu acide.

Mettant en œuvre des concentrations en tween n'exerçant aucune action sur la pousse du staphylocoque, nous avons préparé, dans une seconde phase, des complexes hydrosolubles entre le tween 80 et diverses substances lipidiques du sérum.

Notre étude permet de conclure que le cholestérol, les esters d'acides gras, les glycérides et les phosphatides n'exercent aucune action sur la croissance du staphylocoque.

Au cours de nos essais, nous sommes parvenu à mettre au point une technique permettant de solubiliser des lécithines dans l'eau.

Les tweens possèdent la propriété de rendre « hydrosolubles » de nombreuses substances physiologiques (vitamines, hormones) ou pharmacodynamiques. Il sera possible à l'avenir d'étudier l'influence exercée sur la croissance microbienne par de nombreuses substances habituellement insolubles dans l'eau.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu :
Pour le Doyen :
L'Assesseur,
R. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
F. TAYEAU.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 29 Novembre 1954
Le Recteur,
E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

1 Avery O. T. — *J. am. med. Assoc.*, 1918, **71**, 2050.
2 Bainbridge F. A. — *J. Hyg.*, 1911, **11**, 341.
3 Bauerfeind J. G., Sotier A. L. & Boruff C. S. — *Ind. eng. Chem., Ann. Ed.*, 1942, **14**, 666.
4 Beljanski M. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, **83**, 80.
5 Bergström S., Theorell H. & Davide H. — *Nature*, 1946, **157**, 306.
6 Berkman S., Henry R. J. & Housewright R. D. — *J. Bact.*, 1947, **53**, 567.
7 Berkman S., Henry R. J., Housewright R. D. & Henry J. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1948, **68**, 65; voir aussi Berkman S., Housewright R. D. & Henry R. J. — *J. Immunol.*, 1949, **61**, 349.
8 Boxer G. E., Jelinek V. C. & Edison A. O. — *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 1949, **97**, 93.
9 Buchner H. — *Ber.*, 1897, **30**, 117 et 1110.
10 Cavallito C. J. — *J. biol. Chem.*, 1946, **164**, 29.
11 Cohen S. S. — *J. biol. Chem.*, 1947, **168**, 511.
12 Cohen S., Snyder J. C. & Mueller J. H. — *J. Bact.*, 1941, **41**, 581.
13 Cutinelli C. — *Bull. Istit. sieroter. Milano*, 1940, **19**, 188.
14 Damboviceanu A. & Barber C. — *Arch. roum. Path. exp. Microbiol.*, 1931, **4**, 5.
15 Davis B. D. & Dubos R. J. — *J. exp. Med.*, 1947, **86**, 215.
16 Davis B. D. & Dubos R. J. — *J. Bact.*, 1948, **55**, 11.
17 Den Doren de Jong L. E. — *Dissert. Rotterdam*, 1926; cité par Stephenson [70].
18 Dervichian D. G. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, **78**, 609.
19 Dervichian D. G. & Joly M. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1946, **28**, 426; voir aussi Dervichian D. G. & Magnant C. — *Ibid.*, 1946, **28**, 419.
20 Dervichian D. G. & Mousset H. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, **77**, 703.
21 Di Marco A. & Boretti G. — *Enzymologia*, 1950, **14**, 141.
22 Dubos R. J. *J. exp. Med.*, 1947, **85**, 9.

23 Dubos R. J. — *J. exp. Med.*, 1948, **88,** 73.
24 Dubos R. J. & Davis B. D. — *J. exp. Med.*, 1946, **86,** 409.
25 Eggerth A. H. — *J. gen. Physiol.*, 1927, **10,** 147.
26 Feeney R. E., Mueller J. H. & Miller P. A. — *J. Bact.*, 1943, **46,** 563.
26 bis Feigl. — Spots tests, 2 vol., 518 et 436 p., Elsevier édit., Amsterdam, 1954, **2,** 366.
27 Gale E. F. — The chemical activities of bacteria, 1 vol., 199 p., University Tutorial Press Ltd édit., London, 1947.
28 Gros F. & Machebœuf M. — *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142,** 736; voir aussi Rybak & coll. [66].
29 Gros F. & Machebœuf M. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74,** 347.
30 Gros F., Machebœuf M. & Jeulin S. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **75,** 242.
31 Guirard B. M., Snell E. E. & Williams R. J. — *Arch. Biochem.*, 1946, **9,** 361.
32 Henry H. & Stacey M. — *Nature*, 1943, **151,** 671.
33 Humfeld H. — *J. Bact.*, 1947, **54,** 513.
34 Hutner S. H. — *J. Bact.*, 1942, **43,** 629.
35 Knight B. C. J. G. — *Biochem. J.*, 1937, **31,** 966.
36 Knight B. C. J. G. & Mac Ilwain H. — *Biochem. J.*, 1938, **32,** 1241.
37 Koch R. — *Mitt. k. Gsndhtsamte*, 1881, **1,** 271.
38 Kodicek E. & Worden A. N. — *Nature*, 1944, **154,** 17.
39 Lamar R. V. — *J. exp. Med.*, 1911, **13,** 1 et 381.
40 Larson L. W. & Larson W. P. — *J. inf. Dis.*, 1922, **31,** 407.
41 Lawrence C. A. — *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, 1950, **53,** 66.
42 Lichstein H. C. & Cohen P. P. — *J. biol. Chem.*, 1944, **157,** 85.
43 Linz R. — *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144,** 309.
44 Linz R. & Lecocq E. — *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144,** 991 et 993.
45 Loebel R. O., Shorr E. & Richardson H. B. — *J. Bact.*, 1933, **26,** 139.
46 Lohmann K. — *Biochem. Z.*, 1928, **202,** 466, et **203,** 164.
47 Loste H. — Th. Méd., Bordeaux, 1952.
48 Machebœuf M. — Etat des lipides dans la matière vivante. Les cénapses et leur importance biologique. 1 vol., 78 p., Hermann, édit., Paris, 1937; *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1945, **5,** 71.
49 Machebœuf M. & Gros F. — *J. Méd. Bordeaux*, 1953, **130,** 368.
50 Mac Kee C. M., Dutcher J. D., Groupe V. & Moore M. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1947, **65,** 326.
51 Mac Quillen K. — *Biochem. biophys. Acta*, 1951, **7,** 54.
52 Mesrobeanu L. — Th. Sc., Masson, édit., Paris, 1936.
53 Neuzil E. — Th. Sc., Bordeaux, 1952.

54 Neuzil E. — *Bull. Soc. chim. France,* 1953, 469.
55 Neuzil E. & Canivenc R. — *Bull. Soc. Chim. biol.,* 1951, **33,** 993.
55 bis Neuzil E. & Fréour P. — Résumé des communications du IIe Congrès International de Biochimie, Paris, 1952, p. 165.
56 Neuzil E. & Marquevielle J. — *J. Physiol.,* 1950, **42,** 691.
57 Neuzil E., Tabone J. & Marquevielle J. — *C. R. Acad. Sc.,* 1949, **229,** 600.
58 Nichols H. J. — *J. Lab. clin. Med.,* 1919-1920, **5,** 502.
59 Noguchi H. — *Biochem. Z.,* 1907, **36,** 115.
60 Otsuka I. — *Acta Scholae Med. Univ. imp. Kyoto,* 1916, **1,** 199.
61 Pasteur L. — *C. R. Acad. Sc.,* 1855, **41,** 296; voir aussi Œuvres de Pasteur, 7 vol., Masson, édit., Paris, 1922-1939, **1,** 275.
62 Pasteur L. — *Mém. Soc. Sc. Agri. Arts Lille,* 1857, **5,** 13; voir aussi Œuvres, *Ibid.,* **2,** 3.
63 Polonovski J. — Th. Sc., Paris, 1949.
64 Reichenbach H. — *Z. Hyg.,* 1908, **59,** 296.
65 Richardson G. M. — *Biochem. J.,* 1936, **30,** 2184.
66 Rybak B., Gros F. & Grumbach F. — *Ann. Inst. Pasteur,* 1949, **77,** 148; voir aussi Rybak B., Grumbach F. & Gros F. *Ibid.,* 1949, **77,** 237.
67 Skeggs H. R. & Wright L. D. — *J. biol. Chem.,* 1944, **156,** 21.
68 Snell E. E. & Mitchell H. K. — *Arch. Biochem.,* 1942, **1,** 93.
69 Stanley W. M., Coleman G. H., Greer C. M., Sacks J. & Adams R. — *J. Pharmacol.,* 1932, **45,** 121.
70 Stephenson M. — Bacterial Metabolism, 1 vol., 398 p., 3e édit., Longmans, Green & Co, edit., London, 1949.
71 Strong F. M. & Carpenter L. E. — *Ind. eng. Chem., Anal. Ed.,* 1942, **14,** 909.
72 Tayeau F. — Th. Sc., Bordeaux, 1939, et Th. Méd., Bordeaux, 1944.
73 Tayeau F. — *C. R. Soc. Biol.,* 1944, **138,** 700.
74 Tayeau F., Dulong de Rosnay C. & Martin-Dupont C. — *Tunisie méd.,* 1951, **29,** 906.
75 Tayeau F., Dulong de Rosnay C., Martin-Dupont C. & Loste H. — *J. Méd. Bordeaux,* 1953, **130,** 397.
76 Tayeau F., Neuzil E. & Pautrizel R. — *C. R. Soc. Biol.,* 1947, **141,** 191.
77 Tayeau F. & Rolland R. — *C. R. Soc. Biol.,* 1949, **143,** 394; et *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux,* 1950, **88,** 11.
78 Trager W. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.,* 1947, **64,** 129.
79 Traube M. — *Ber.,* 1877, **10,** 1984.
80 Umbreit W. W. — Symposium sur le mode d'action des antibiotiques. IIe Congrès intern. Biochimie, Paris, 1952. 1 vol., Sedes, édit., Paris, 1952.
81 Valette G. & Liber A. — *C. R. Soc. Biol.,* 1941, **135,** 851.

82 Valko E. I. — *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, 1946, **46,** 451.
83 Veldstra H. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, **31,** 594.
84 Vendrely R. — Congrès intern. Chimie biol., Liège, 1946; cité par Stephenson [70], p. 148.
85 Waksman S. A., Bugie E. & Schatz A. — *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.*, 1944, **19,** 537.
86 Williams V. R. & Fieger E. A. — *J. biol. Chem.*, 1946, **166,** 335.
87 Williams W. L., Broquist H. P. & Snell E. E. — *J. biol. Chem.*, 1947, **170,** 619.
88 Woods D. D. & Fildes P. — *Chemistry and Industry*, 1940, **59,** 133; voir aussi Woods D. D. — *Brit. J. exp. Pathol.*, 1940, **21,** 74.
89 Woolley D. W. & White A. G. C. — *J. biol. Chem.*, 1943, **149,** 285.
90 Woolley D. W. & White A. G. C. — *J. exp. Med.*, 1943, **78,** 489.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

AVANT-PROPOS 1

PREMIÈRE PARTIE

Quelques données de physiologie microbienne.

CHAPITRE PREMIER. — APERÇUS SUR LE MÉTABOLISME BACTÉRIEN. 7

I. Métabolisme hydrominéral 11

II. — Métabolisme des composés non azotés 12

III. — Métabolisme azoté 18

CHAPITRE II. — MODE D'ACTION DE QUELQUES ANTIBIOTIQUES SUR LES BACTÉRIES ET LE STAPHYLOCOQUE EN PARTICULIER 23

CHAPITRE III. — ACTION DES ACIDES GRAS SUR LES BACTÉRIES. 27

I. — Action antiseptique des acides gras 27

II. — Les acides gras facteurs de croissance 32

DEUXIÈME PARTIE

Recherches expérimentales.

CHAPITRE PREMIER. — RECHERCHE D'UNE TECHNIQUE D'ÉTUDE DE LA CROISSANCE MICROBIENNE 37

I. — Mesure de la multiplication microbienne 38

II. — Les substances lipidiques sériques 40

Pages

Chapitre II. — Action des divers tweens sur la croissance microbienne dans des conditions normales 43

I. — Les tweens 43

II. — Action du tween 80 sur la croissance du staphylocoque 46

III. — Action du tween 20 sur la croissance du staphylocoque 52

Conclusions du chapitre II 56

Chapitre III. — Action du tween 80 sur la croissance du staphylocoque dans des conditions défavorables 57

Conclusions du chapitre III 60

Chapitre IV. — Action du cholestérol sur la croissance du staphylocoque 61

Conclusions du chapitre IV 62

Chapitre V. — Action des acides gras, des esters et des glycérides sur la croissance du staphylocoque 63

I. — Les acides gras 63

II. — Esters d'acides gras 65

III. — Action des glycérides 67

Conclusions du chapitre V 68

Chapitre VI. — Action des phosphatides sur la croissance du staphylocoque 69

I. — Mise au point d'une technique de solubilisation des phosphatides (lécithines) par les tweens 70

II. — Action des complexes tween-phosphatides (lécithines) sur la croissance du staphylocoque 71

Conclusions du chapitre VI 71

Courbes représentatives des variations de la croissance microbienne 73

Conclusions 79

Bibliographie 83

Bordeaux. — Imp. E. Drouillard, place de la Victoire, 3.